

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Marie Martinisková

Kontrastní látky pro ^{19}F nukleární magnetickou tomografii

Contrast agents for ^{19}F magnetic resonance imaging

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Praha, 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 30. 5. 2013

Podpis

Abstrakt

Tato bakalářská práce je zaměřena na přípravu a studium nových makrocyclických ligandů obsahující atomy ^{19}F pro komplexaci trojmocných iontů z řady lanthanoidů, s potenciálním použitím jako kontrastních látek pro ^{19}F tomografii magnetické rezonance.

Připravené ligandy jsou navrženy jakožto analoga dnes klinicky používaných ligandů pro chelataci Gd^{3+} odvozených od cyklenu. Byly připraveny oba navržené ligandy $\text{DO3AP}^{\text{tfe}}$ a DOTP^{tfe} . Dále byly připraveny komplexy $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$, které byly charakterizovány a NMR studii a luminiscenční spektroskopií byla stanovena jejich pravděpodobná struktura ve vodném roztoku.

Pomocí NMR byly naměřeny T_1 relaxační časy volného ligandu DOTP^{tfe} a komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$.

Abstract

The aim of this bachelor thesis is to synthesize and study new kind of macrocyclic ligands for Ln^{3+} ions containing nuclei ^{19}F for using as possible contrast agents in ^{19}F magnetic resonance imaging.

Prepared ligands were designed as analogues of already known ligands for Ln^{3+} ions, which are used in clinical practice. Both designed ligands were successfully prepared.

Complexes $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ were prepared and their structure in aqueous solution was predicted by NMR studies and luminescence spectroscopy. T_1 relaxation times of nuclei ^{19}F in complexes $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ and ligand DOTP^{tfe} were determined.

Poděkování

Předně bych ráda poděkovala svému školiteli Honzovi Kotkovi za jeho trpělivost, cenné rady k práci i do života a za mnohé další, protože jmenovat vše by bylo na dlouho.

Karlu Škochovi za ochotu tuto práci oponovat.

Petru Hermannovi a Vojtovi Kubičkovi za poskytnuté konzultace ve chvílích zoufalství.

Drahé kolegyni Lucii Suché a Úplně Umřeté Rybičce za psychickou podporu během studia, díky nimž jsem si zachovala zbytky zdravého rozumu.

Sandrovi, Vojtovi, Mírovi, Ondrovi, nejlepšímu Honzovi a hlavně nejlepší Terce za měření spekter všeho druhu.

Celému osazenstvu malého i velkého labu za dobrou náladu na pracovišti a motivující pracovní prostředí.

Mé mamince za to, že je.

Obsah

1. Teoretická část	8
1.1 KOORDINAČNÍ CHEMIE A MEDICÍNA	8
1.2 ZOBRAZOVACÍ METODY V MEDICÍNĚ.....	9
1.3 TOMOGRAFIE MAGNETICKÉ REZONANCE (MRI).....	10
1.3.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)	11
1.3.1.1 Chemický posun δ	13
1.3.1.2 Interakční konstanta J	14
1.3.1.3 Širokopásmový dekaplink.....	15
1.3.1.4 T_1 a T_2 relaxační časy.....	16
1.3.2 ^1H MRI.....	17
1.3.2.1 Kontrastní látky pro ^1H MRI	17
1.3.3 ^{19}F MRI	18
1.3.3.1 Kontrastní látky pro ^{19}F MRI.....	19
2. Motivace a cíle práce	23
3. Experimentální část.....	24
3.1 SEZNAM POUŽITÝCH CHEMIKÁLIÍ.....	24
3.2 METODY CHARAKTERIZACE.....	25
3.2.1 NMR spektroskopie	25
3.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)	26
3.2.3 Tenkovrstvá chromatografie (TLC).....	26
3.2.4 Elementární analýza.....	26
3.2.5 Luminiscenční spektroskopie.....	26
3.3 SYNTETICKÁ ČÁST	27
3.3.1 Syntéza 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny.....	27
3.3.2 Syntéza 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trioctové-10- methyl(trifluorethyl)fosfinové kyseliny (DO3A^{tfe}).....	29

3.3.3 Syntéza 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetrakis[methyl(trifluorethyl)fosfinové kyseliny] (DOTP ^{tfé}).....	30
3.3.4 Příprava [Ln ^{III} (DOTP ^{tfé})] ⁻	31
4. Výsledky a diskuze	35
4.1 SYNTÉZA 2,2,2-TRIFLUORETHYLFOSFINOVÉ KYSELINY	35
4.2 SYNTÉZA DO3AP ^{TFE}	37
4.3 SYNTÉZA DOTP ^{TFE} A PŘÍPRAVA [LN ^{III} (DOTP ^{TFE})] ⁻	37
4.3.1 Stanovení hydratačního čísla <i>q</i>	41
4.3.2 Struktura komplexů [Ln ^{III} (dotp ^{tfé})] ⁻ ve vodném roztoku	41
4.3.3 Relaxační časy <i>T</i> ₁ komplexů [Ln ^{III} (dotp ^{tfé})] ⁻	43
5. Závěr	45
6. Seznam literatury	46
7. Seznam použitých zkratk	50

1. Teoretická část

1.1 Koordinační chemie a medicína

Dnešní medicína využívá velké množství koordinačních sloučenin. Jednou z nejznámějších takových sloučenin je *cis*-diammin-dichloridoplatnatý komplex, známý jako *cis*-platina*. Tato sloučenina se používá při léčbě některých druhů rakoviny. Její účinky byly objeveny zcela náhodně v roce 1960 B. Rossenbergem a L. van Campem na univerzitě v Michiganu při zkoumání vlivu elektrického pole na kolonii bakterií *E. coli* za použití platinových elektrod. *Cis*-platina působí podobně jako alkylační cytostatika; v intracelulárním prostoru se z komplexu odštěpí ionty chloru a zbytek komplexu se váže na purinové báze v řetězci DNA, jejíž metabolismus tím narušuje a předně zamezuje replikaci DNA a tím možnému dělení buňky. Dnes je však nahrazována platnatými komplexy druhé či třetí generace, např. karboplatinou† (*cis*-diammin-cyklobutan-1,1'-dikarboxylátoplatnatý komplex) či oxaliplatinou‡ (1*R*,2*R*-diammincyklohexan-oxalátoplatnatý komplex).[1]

Další využití koordinační chemie v medicíně nacházíme při léčení otrav těžkými kovy, kdy se pacientu podá chelatační látka, která je schopná v těle tvořit s ionty těžkých kovů stabilní komplexní sloučeniny. Ve formě těchto komplexů je tělo schopné se iontů zbavit. Příkladem chelatačního činidla je EDTA či thioalkoholy, např. 2,3-dimerkaptopropanol, známý pod názvem dimerkaprol či British anti-Lewisit (BAL).[2] BAL byl původně připraven během 2. světové války jako lék proti otravě Lewisitem (2-chlorethyldichlorarsen), což je organická sloučenina arsenu, která byla během války používána jako chemická zbraň.[3] Dnes se dimerkaprol používá při léčbě otrav ionty Hg^{2+} , As^{3+} a Pb^{2+} . Obdobná chelatační léčba se užívá i při léčbě některých poruchách metabolismu, např. Wilsonovy choroby, která je poruchou metabolismu mědi, či hemochromatózy, která je charakterizována nadměrným vstřebáváním železa ze zažívacího traktu a jeho následným ukládáním ve tkáních.[1][4]

V neposlední řadě se s koordinačními sloučeninami v lékařství setkáváme jako s kontrastními látkami pro některé zobrazovací metody, například pro tomografii magnetické rezonance (**M**agnetic **R**esonance **I**maging, MRI), kde slouží ke zlepšení

* Obchodní název Cisplatin®.

† Obchodní název Paraplatin®.

‡ Obchodní název Eloxatin®.

kontrastu a rozlišení výsledného obrazu. Většina dnes využívaných kontrastních látek jsou komplexy iontu Gd^{3+} . Další neméně významnou aplikací koordinačních sloučenin je oblast nukleární medicíny, kde jsou centrálními atomy komplexů radionuklidů přechodných i nepřechodných kovů vhodné k radiodiagnostickým a radioterapeutickým účelům. Poněvadž se ionty takto využívaných kovů obvykle vyznačují vysokou toxicitou, je nutné, aby byly použité komplexy velmi stálé (tj. kineticky inertní) za podmínek *in vivo*. [5][6]

1.2 Zobrazovací metody v medicíně

Molekulární a buněčné zobrazování může být definováno jako neinvazivní, opakované zobrazování značených molekul a biologických procesů v živých organizmech. [7] Optimální molekulární a buněčné zobrazovací techniky poskytují informace o stavu a vývoji biologických, biochemických, diagnostických a terapeutických aplikací v čase s přesnou lokalizací původu signálu. Za tímto účelem jsou často využívány techniky jednofotonové emisní počítačové tomografie (**S**ingle **P**hoton **E**mission **C**omputed **T**omography, SPECT) a pozitronové emisní tomografie (**P**ositron **E**mission **T**omography, PET), kterými je možné detekovat již subnanomolární koncentrace radioaktivních kontrastních látek s rozlišením řádově mezi 0,5–5 mm. [8] Pro přesnou lokalizaci místa původu signálu v rámci organismu je však většinou nutné tyto techniky kombinovat s počítačovou tomografií (**C**omputed **T**omography, CT) nebo magnetickou rezonancí. Magnetická rezonance je jediná zmíněná zobrazovací technika, která poskytuje obrazy vnitřních orgánů a tkání bez použití ionizujícího záření. Touto technikou lze navíc dosáhnout rozlišení až v řádech 50 μm . U 35 % vyšetření pomocí magnetické rezonance jsou pro zvýšení kontrastu využívány kontrastní látky, jejichž dávky se pohybují v milimolárních koncentracích. [9]

Jednofotonová emisní počítačová tomografie (SPECT)

Metoda jednofotonové emisní počítačové tomografie (SPECT) je založena na detekci fotonů o energii 100-250 keV, které jsou emitovány γ -zářiči. Záření o nižší či vyšší energii, než je toto rozmezí, vede ke snížení kvality výsledného obrazu. [10] Při vlastním vyšetření obíhá scintilační kamera kolem těla pacienta a postupně snímá planární řezy kolmé na osu rotace kamery. Z těch se následně počítačovou rekonstrukcí složí trojrozměrný obraz rozložení radiofarmaka v těle pacienta. [11]

Nejpoužívanějším radionuklidem pro metodu SPECT je ^{99m}Tc (poločas rozpadu $\tau_{1/2} = 6,02 \text{ h}$), mezi další používané radionuklidy patří ^{111}In a ^{67}Ga . Rozlišení metody SPECT je kolem 1 cm^3 , což je velmi nízké rozlišení oproti metodě PET, na druhou stranu je metoda SPECT méně finančně náročná.

Pozitronová emisní tomografie (PET)

Metoda pozitronové emisní tomografie (PET) je založena na koincidenční detekci dvojice fotonů γ záření, která vzniká anihilací elektronu tkáně s pozitronem β^+ , jenž je emitován radionuklidem. Vzniklé fotony vylétávají z místa vzniku v přesně opačných směrech, mají shodnou energii (511 keV) a dopadají na detektor ve stejném okamžiku. Tím je určeno místo vzniku a tvořen obraz. Rozlišení této metody je velmi vysoké, v klinickém uspořádání menší než 1 mm^3 . [5][11]

Nejčastěji užívaný radionuklid je ^{18}F (poločas rozpadu $\tau_{1/2} = 110 \text{ min}$) ve formě 2-deoxy-2(^{18}F)fluoro-D-glukózy (FDG). FDG má stejně jako glukóza vysokou afinitu k nádorovým tkáním, kde je poté fosforylována. Protože FDG nemůže být metabolizována, dochází k její akumulaci v buňkách, což se projeví zvýšením aktivity v nádoru. FDG je vychytávána i buňkami nerakovinými, které mají zvýšenou spotřebu glukózy, jako jsou např. zánětlivá ložiska. Protože emitované pozitrony β^+ urazí poměrně velkou vzdálenost před anihilací, dochází ke snížení diagnostické specifity vyšetření. [12] Dalšími používanými radionuklidy pro metodu PET jsou ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , z kovů například ^{64}Cu , ^{68}Ga či ^{86}Y .

1.3 Tomografie magnetické rezonance (MRI)

Tomografie magnetické rezonance (MRI) se řadí mezi nejpoužívanější zobrazovací techniky v klinické medicíně. V porovnání s ostatními zobrazovacími technikami má magnetická rezonance několik nesporných výhod. Tou nejpodstatnější je schopnost zobrazení vnitřních orgánů a tkání bez použití ionizujícího záření, na rozdíl od již popsáných metod PET a SPECT.

Fyzikální princip této metody je založen na principech nukleární magnetické rezonance (**N**uclear **M**agnetic **R**esonance, NMR). Nejčastěji měřeným jádrem je ^1H v molekule vody, jejíž zastoupení v měkkých tkáních je značné. MRI sleduje změny chování vodíků v molekule vody ve vnějším magnetickém poli. Toto chování je ovlivněno mnoha faktory – koncentrací vody ve tkáni, pH, teplotou, příp. přítomností

jiných látek a jejich koncentrací. Z těchto látek je třeba uvést hlavně paramagnetické látky, jejichž přítomnost zásadně ovlivňuje longitudinální (podélný, spin-mřížkový) a transverzální (příčný, spin-spinový) relaxační čas T_1 a T_2 , tj. rychlost relaxace jader vodíku v molekulách vody se zvyšuje.

Rozlišení obrazu nejvíce záleží na rozdílu longitudinálního T_1 a transverzálního T_2 relaxačního času zdravé a patologické tkáně. Zobrazovací limity jsou stále posouvány dále vývojem nových kontrastních látek, které zlepšují rozlišení obrazu změnou relaxačního času tkáně, ve které je kontrastní látka distribuovaná. O kontrastních látkách používaných k vyšetření tomografií magnetické rezonance bude pojednáno v dalších kapitolách.

1.3.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Fyzikální princip[13] této hojně využívané analytické metody je založen na chování atomových jader s nenulovým jaderným spinem I . Jaderný spin I je veličina charakteristická pro konkrétní nuklid. Jádra se sudým počtem protonů a sudým počtem neutronů mají jaderný spin roven nule ($I = 0$), např. ^{12}C a ^{16}O . Jádra s lichým počtem protonů a lichým počtem neutronů mají jaderný spin celočíselný, např. ^2H nebo ^{14}N , poločíselný spin mají jádra s lichým nukleonovým číslem, např. ^1H , ^{13}C . Jak již bylo uvedeno výše, NMR aktivní jsou pouze jádra s nenulovým jaderným spinem, tedy $I \neq 0$. Ovšem jádra, která mají jaderný spin větší než $1/2$, tedy platí $I > 1/2$, mají kromě jaderného magnetického momentu i kvadrupolový moment a jsou velmi obtížně měřitelná. Proto jsou nejčastěji měřená jádra, pro která platí $I = 1/2$, tedy např. ^1H , ^{13}C , ^{15}N a ^{31}P .

Další významnou vlastností jádra je magnetický moment μ , který je definován jako:

$$\mu = \frac{\gamma h \sqrt{I(I+1)}}{2\pi} \quad (1)$$

kde γ je gyromagnetický poměr jádra, I spinové kvantové číslo a h Planckova konstanta. Gyromagnetický poměr jádra je další veličina, která charakterizuje daný nuklid. Hodnoty gyromagnetických poměrů vybraných jader jsou uvedeny v Tabulce 1.1.

Bez přítomnosti vnějšího magnetického pole nejsou jaderné spiny jádra v prostoru nijak uspořádány a jejich energie jsou stejné. Jakmile je ovšem jádro vloženo do vnějšího magnetického pole B_0 , jaderné spiny jsou prostorově kvantovány v $2I+1$ polohách. V případě jádra s $I = 1/2$ tedy dostáváme dvě energetické hladiny, označované jako α a β :

$$E_\alpha = \frac{-0,5\gamma h B_0}{2\pi} \quad (2)$$

$$E_\beta = \frac{0,5\gamma h B_0}{2\pi} \quad (3)$$

Energetický rozdíl je roven:

$$\Delta E = E_\beta - E_\alpha = \frac{\gamma h B_0}{2\pi} \quad (4)$$

Vzhledem k malému rozdílu mezi energetickými hladinami je rozložení jader na obou hladinách téměř stejné, nadbytek na nižší hladině je okolo 10^{-5} v závislosti na intenzitě magnetického pole B_0 a gyromagnetickém poměru jádra γ , což odpovídá poměru jader řádově 100001/100000. Přesný poměr jader na hladině α a na hladině β lze spočítat pomocí Boltzmannova distribučního zákona:

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{\frac{\Delta E}{k_B T}} \quad (5)$$

kde k_B je Boltzmannova konstanta ($= 1,3805 \cdot 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$) a T teplota. Platí, že čím větší je magnetická indukce B_0 , tím větší je energetický rozdíl mezi jednotlivými energetickými stavy α a β , což vede k většímu rozdílu v populacích spinových stavů. Citlivost NMR měření je tím vyšší, čím větší je rozdíl mezi populacemi spinových stavů.

V Tabulce 1.1 jsou vypsány magnetické vlastnosti vybraných jader – jejich spin, přirozené zastoupení, gyromagnetický poměr, NMR frekvence a citlivost. Velikost magnetické indukce B_0 určitého přístroje je obvykle udávána jako frekvence, při níž rezonují jádra ^1H . Poslední sloupec tabulky udává citlivost měření pro dané jádro; nejcitlivějším jádrem je ^1H . Ostatní jádra nejsou tak citlivá, poněvadž mají nižší

gyromagnetický poměr γ , který způsobuje nižší energetický rozdíl mezi stavy α a β , což vede k menšímu přebytku jader ve stavu α . Na citlivost měření má samozřejmě vliv i zastoupení daného izotopu v přírodě, např. izotop ^{13}C má v uhlíku přírodního původu zastoupení kolem 1 %; to znamená, že pouhé 1 % všech jader C přispívá k NMR signálu, zbylých 99 % jsou jádra ^{12}C , která jsou NMR neaktivní.

Tabulka 1.1 Magnetické vlastnosti vybraných jader pro NMR měření

Jádro	Spin	Přírozený výskyt	γ [$10^7 \text{ radT}^{-1}\text{s}^{-1}$]	NMR frekvence (11,74 T)	Citlivost
^1H	1/2	99,99 %	26,75	500,0 MHz	100 %
^3H	1/2	–	28,54	533,3 MHz	0 %
^{13}C	1/2	1,07 %	6,73	125,7 MHz	0,02 %
^{15}N	1/2	0,37 %	–2,71	50,7 MHz	0,0004 %
^{19}F	1/2	100 %	25,18	470,4 MHz	84 %
^{31}P	1/2	100 %	10,84	202,4 MHz	6,6 %

1.3.1.1 Chemický posun δ

Z výše napsaných odstavců vyplývá, že všechna jádra jednoho nuklidu by při vložení do vnějšího magnetického pole rezonovala při stejné frekvenci, což by vedlo k detekci jednoho signálu v NMR spektru. Možnost měřit NMR spektrum je umožněna elektrony v blízkosti jádra, které vnější magnetické pole stíní. Tyto elektrony svým pohybem samy vytváří vlastní magnetické pole, které však má opačný směr nežli pole vnější. Jádra jednoho nuklidu, která ale nejsou chemicky ekvivalentní (nemají stejné chemické okolí), se liší svým elektronovým okolím. Tyto drobné odlišnosti v elektronových poměrech vedou k rozdílům mezi stíněním, což znamená, že na dvě neekvivalentní jádra působí rozdílné efektivní magnetické pole B_{ef} , takže rezonují při lehce rozdílných frekvencích. Intenzita stínění je charakterizována stínicí konstantou σ a velikostí efektivního magnetického pole B_{ef} vyjadřuje vztah:

$$B_{\text{ef}} = B_0 - \sigma B_0 = B_0(1 - \sigma) \quad (6)$$

Ze vztahu (6) je vidět, že intenzita stínění je přímo úměrná indukci vnějšího magnetického pole B_0 . Tyto různé rezonanční frekvence se nazývají též "*chemický posun*" a jsou nejčastěji udávány na stupnici δ v jednotkách ppm (parts per milion) odpovídajících miliontině intenzity vnějšího pole. Chemický posun je definován vztahem (7):

$$\delta_x = \frac{\nu_x - \nu_{\text{ref}}}{\nu_{\text{ref}}} \cdot 10^6 \quad (7)$$

kde δ_x je chemický posun jádra x , ν_x je rezonanční frekvence jádra x a ν_{ref} rezonanční frekvence referenční sloučeniny. Referenční sloučeninou bývá u ^1H NMR spekter nejčastěji tetramethylsilan (TMS) či terciální butylalkohol (*t*BuOH).

Výhodou takto definovaného chemického posunu je nezávislost veličiny na hodnotě intenzity vnějšího magnetického pole; tj. chemický posun jednoho signálu bude stejný při použití různých NMR přístrojů s odlišnými hodnotami intenzit vnějšího magnetického pole.

1.3.1.2 Interakční konstanta J

V NMR spektrech se projevují dva typy magnetických interakcí mezi jádry atomů v molekule. Přímá dipól-dipólová interakce je důsledek vzájemného působení magnetických momentů jader v prostoru. Tyto interakce jsou v izotropním prostředí (kapalina, roztok) průměrovány k nule rychlými reorientacemi molekul v důsledku Brownova pohybu. Nepřímá spin-spinová interakce je zprostředkována vazebnými elektrony, které též mají spin. To způsobuje multiplicitu (štěpení) signálů v NMR spektrech, které jsou měřeny v izotropním prostředí.

V molekule $^{13}\text{CHCl}_3$ magnetický moment vodíku způsobuje slabou magnetickou polarizaci vazebných elektronů – opačná orientace spinu jádra a elektronu je energeticky výhodnější. Spiny valenčních elektronů se řídí Hundovým pravidlem, které hovoří o energetické výhodnosti maximální multiplicity, a Pauliho vylučovacím principem, který říká, že dva fermiony (mezi které se řadí i elektrony) se nesmí nacházet ve stejném kvantovém stavu v jedné molekule. Dva elektrony v jednom orbitalu tedy musí mít opačný spin.

Energetický diagram ^{13}C ukazuje dvě možné energetické hladiny α a β . V NMR spektru tedy pozorujeme chemický posun odpovídající frekvenci přechodu $\alpha \rightarrow \beta$. Díky spin-spinové interakce dojde ke štěpení obou hladin na dvě hladiny; v energetickém diagramu zahrnující spin-spinovou interakci má tedy izotop ^{13}C celkem 4 možné hladiny v závislosti na orientaci spinů. V tomto diagramu lze pozorovat 4 různé přechody jádra ^{13}C ; z nichž dva a zbylé dva mají jinou odpovídající frekvenci splňující rezonanční podmínku, tj. v NMR spektru je pozorován dublet. Průměrná hodnota těchto dvou frekvencí odpovídá frekvenci přechodu $\alpha \rightarrow \beta$ v diagramu, který spin-spinovou interakci nezahrnuje. Intenzity obou signálů jsou stejné. Štěpení v důsledku spin-spinové interakce můžeme pozorovat jak ve spektru jádra ^1H , tak i ^{13}C .

Velikost této interakce udává tzv. "*interakční konstanta*", J (jednotka Herz, Hz). Index n vlevo nahoře označuje počet vazeb mezi interagujícími jádry. Interakční konstanty označujeme jako přímé (1J), geminální (2J) a vicinální (3J), příp. interakce na velkou vzdálenost (4J , 5J , ...). Velikost interakční konstanty J lze odečíst ze vzdálenosti štěpených signálů v NMR spektru. Interakční konstanta je nezávislá na velikosti vnějšího magnetického pole a nelze ji pozorovat mezi chemicky ekvivalentními jádry.

Měřené jádro může ovšem interagovat s více než jedním magnetickým jádrem. Každá linie signálu, která vzniká interakcí s právě jedním jádrem je dále štěpena na další linie interakcí s dalším jádrem. Signál takového jádra se skládá z několika linií a hovoříme o "*multiplicitě signálu*". Jádro interagující se dvěma dalšími jádry, které mají stejné interakční konstanty, vytvoří triplet o poměru intenzit 1:2:1. Pokud bude štípáno dvěma chemicky neekvivalentními jádry, tedy jejich interakční konstanty budou různé, na NMR spektru se zobrazí 4 linie a hovoříme o dubletu dubletů, kde všechny 4 linie budou mít shodnou intenzitu. Jedna interakční konstanta odpovídá vzdálenosti mezi 1. a 2. linií, druhá mezi 1. a 3. linií.

1.3.1.3 Širokopásmový dekaplink

Štěpení signálů spin-spinovou interakcí sice pomáhá při stanovení struktury měřené sloučeniny, ovšem zároveň ztěžuje měření, kdy vlivem snížené intenzity signálu důsledkem štěpení je horší poměr signál/šum, a interpretaci některých spekter, poněvadž signály se mohou překrývat. Heteronukleární interakci lze odstranit pomocí tzv. "*širokopásmového dekaplinku*"; během doby měření jednoho jádra jsou jádra

interagujícího atomu ozařována dalším elektromagnetickým polem s frekvencí odpovídající jejich rezonanční frekvenci. To způsobí rychlé přechody mezi hladinami α a β a vyrušení spin-spinové interakce.

1.3.1.4 T_1 a T_2 relaxační časy

Vektor magnetizace vzorku v rovnovážném stavu směřuje ve směru osy z . Elektromagnetickými pulzy můžeme tento vektor stáčet ze směru osy z a tím jaderný spinový systém vyvést z rovnováhy. Proces, během kterého se systém vrací zpět do původního rovnovážného stavu, označujeme jako "*relaxace*". V NMR spektroskopii se rozlišují dva typy relaxačních dějů, a to "*podélná relaxace*" a "*mřížková relaxace*".

Podélná relaxace (označovaná také jako spin-mřížková či longitudální) je obnova magnetizace ve směru osy z . Např. při použití 90° -pulzu se vektor magnetizace sklopí do roviny xy ; v tomto okamžiku je magnetizace ve směru osy z nulová a postupně narůstá díky podélné relaxaci dle vztahu:

$$M_z = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \quad (8)$$

kde M_z je velikost magnetizace ve směru osy z , M_0 je rovnovážná magnetizace, t je čas uplynulý od 90° -pulzu a T_1 je spin-mřížkový relaxační čas. Ze vztahu (8) je vidět, že čím kratší je T_1 relaxační čas, tím dříve je rovnovážného stavu opět dosaženo.

Příčná relaxace (označovaná také jako spin-spinová či transverzální) je způsobuje úbytek magnetizace v rovině xy . Tento úbytek probíhá dle vztahu:

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (9)$$

kde M_{xy} je magnetizace v rovině xy , t čas po 90° pulzu a T_2 je spin-spinový relaxační čas. Platí, že čím kratší je relaxační čas T_2 , tím rychleji ubývá magnetizace v rovině xy a také intenzita snímaného signálu. Krátký relaxační čas T_2 také způsobuje rozšíření NMR signálu ve spektru.

1.3.2 ^1H MRI

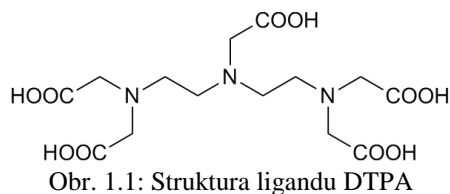
Nejčastěji měřeným jádrem je jádro ^1H v molekule vody, jejíž obsah je v měkkých tkáních vysoký. Díky tomu je možné sledovat nejrůznější změny fyziologie a detekovat patologické nálezy ve tkáních. V závislosti na uspořádání MRI experimentu lze získat obraz odpovídající distribuci vody ve zkoumaných tkáních nebo také obraz odpovídající hodnotám T_1 a T_2 relaxačních časů.

1.3.2.1 Kontrastní látky pro ^1H MRI

Kontrastní látky pro ^1H MRI lze rozdělit na dvě velké skupiny – T_1 kontrastní látky a T_2 kontrastní látky.[14] Zatímco T_1 kontrastní látka indukuje při volbě vhodné pulzní sekvence pozitivní obraz, tedy zesiluje NMR signál atomu vodíku, čímž se tkáň v konečném obraze jeví světlejší, T_2 kontrastní látka naopak způsobí zeslabení tohoto signálu a ztmavnutím tkáně.[15]

T_2 kontrastní látky jsou založeny na superparamagnetických nanočásticích oxidů železa (magnetit Fe_3O_4 , maghemit $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) o velikosti do několika desítek nanometrů. Pro *in vivo* aplikace bývají pokryté vrstvou např. dextranu, silikagelu nebo polyethylenglykolu, což částice zvětší až na velikost několika stovek nanometrů.

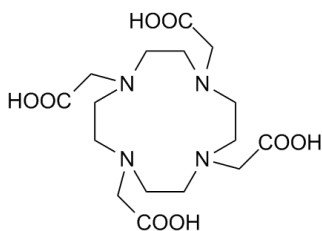
T_1 kontrastní látky jsou komplexy paramagnetických iontů kovů s vhodnými chelatajícími ligandy. Nejčastěji se jedná o ionty Gd^{3+} . Prvním schváleným komplexem Gd^{3+} pro klinickou praxi byl gadolinitý komplex kyseliny diethylenetriaminpentaoctové (zkráceně Gd-DTPA, struktura ligandu je zobrazena na Obr. 1.1), který byl schválen roku 1988. §[5]



Volné ionty Gd^{3+} , resp. $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_9]^{3+}$, jsou pro tělo vysoce toxické. Aby v těle nedocházelo k transmetalaci (výměna iontů v komplexu), transchelataci (výměna ligandu na daném kovu) či dekomplexaci vlivem pH, musí veškeré komplexy vykazovat vysokou termodynamickou a kinetickou stabilitu.[6]

§ Obchodní název Magnevist®

Druhým strukturním motivem, používaný pro kontrastní látky pro kontrastní látky pro jeho vysokou stabilitu komplexů s Ln^{3+} ionty, je 1,4,7,10-tetraazacyklodekan-1,4,7,10-tetraoctová kyselina (DOTA) (Obr. 1.2).



Obr. 1.2: Struktura ligandu DOTA

Oba dva zmíněné ligandy mají osm donorových atomů, deváté koordinační místo obsazuje molekula vody přítomná v tkáni, kde je kontrastní látka distribuována. Rychlá výměna vody na komplexu zajišťuje přenos magnetické informace z iontu Gd^{3+} na molekuly vody a tím je ovlivněna relaxace jader vodíku v molekulách vody ve tkáních.[5]

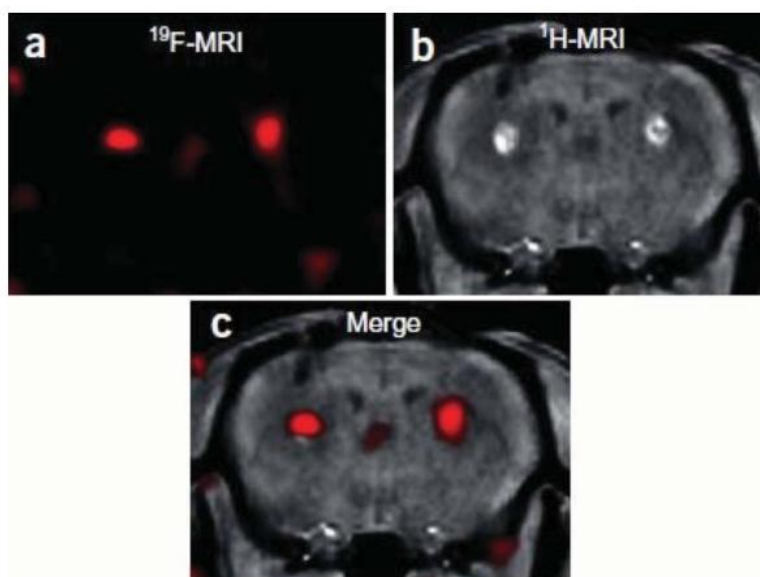
1.3.3 ^{19}F MRI

V některých případech však při vyšetření ^1H MRI není dosaženo potřebného kontrastu ani při použití kontrastní látky kvůli rušení či snížení kontrastu způsobeném vlastními ^1H atomy, které ztěžují interpretaci výsledných MRI obrazů. Protože ^1H jádro není jediné jádro, které NMR aktivní, zaměřil se výzkum během posledních několik let i k "non-proton" MRI.[16]

Jedním z nejvíce slibných jader je ^{19}F . Tato jádra nemají v lidském těle žádné přirozené pozadí, poněvadž veškeré atomy ^{19}F jsou v lidském těle koncentrovány v tvrdých tkáních – v kostech a zubech, což rapidně zkracuje jejich transverzální relaxační čas T_2 . Toto zkrácení T_2 relaxačního času má za následek nedetekovatelnost signálu atomů ^{19}F pomocí MRI; kontrastní látka je tedy jediným zdrojem signálu.[17] Další výhodou tohoto jádra je 100% přirozené zastoupení a 84% citlivost v porovnání s nuklidem ^1H , což umožňuje využití stávajících ^1H MRI přístrojů pouze s drobnými softwarovými a hardwarovými úpravami.

Ze snímků ^{19}F MRI ovšem nedostáváme žádnou anatomickou informaci, pouze lokaci, kde je daná kontrastní látka distribuována. Proto je tuto metodu nutné kombinovat např. s ^1H MRI či CT a teprve překryvem snímků z ^{19}F MRI a např. ^1H

MRI dostáváme přesnou distribuci kontrastní látky v těle. Na Obr. 1.3 jsou zobrazena bazální ganglia živé myši označená ^{19}F kontrastní látkou, ^1H MRI bez použití kontrastní látky a překryv těchto snímků. Snímky jsou převzaty z lit.[18].



Obr. 1.3: Bazální ganglia myši zobrazené pomocí ^{19}F kontrastní látky (a), ^1H MRI bez použití kontrastu (b) a překryv snímků (c); převzato z lit.[18]

1.3.3.1 Kontrastní látky pro ^{19}F MRI

První ^{19}F fantomy byly naměřeny již v roce 1977, kdy Holland popsal fantomové snímky roztoku NaF a perfluorotributylaminu, což bylo zhruba 4 roky po sestrojení prvních ^1H MRI přístrojů. První snímky *in vivo* byly publikovány r. 1985, kdy McFarland se svými spolupracovníky pořídil snímky břišní dutiny myši. Do roku 2005 se objevilo několik stovek publikací zabývajících se tímto tématem, povětšinou byly použity fluorované organické molekuly.[16] Tyto práce jsou shrnuty v review publikovaném Jian-xinem Yuem v *Current Medicinal Chemistry* roku 2005.[19] Z důvodu dlouhého relaxačního času T_1 atomů fluoru se však začala pozornost vědců obracet ke hledání vhodných motivů a struktur fluorovaných kontrastních látek. Jedním z hlavních kritérií je předně možnost zavedení fluorované skupiny do blízkosti paramagnetického iontu. Hlavní ideou tedy je, aby kontrastní látka obsahovala paramagnetické centrum (ionty přechodných kovů či kovů z řady lanthanoidů) a atomy fluoru v takové vzdálenosti, aby docházelo k dostatečnému ovlivnění T_1 relaxačního času. Paramagnetické centrum ovšem ovlivňuje zároveň T_2 relaxační čas, jehož přílišné snížení způsobuje značné rozšíření MRI signálu, až jeho vymizení. Proto je nutné

strukturu CA přesně ladit, aby vzdálenost mezi paramagnetickým centrem a atomy fluoru dostatečně ovlivňovala T_1 relaxační čas, ale zároveň příliš neovlivňovala relaxační čas T_2 .

Jedním ze strukturních typů kontrastní látky pro fluorovou magnetickou rezonanci jsou micely. Micely jsou kulovité útvary amfifilních molekul; ve vodných roztocích se uspořádávají tak, že hydrofobní části molekul se asociují uvnitř micely, zatímco hydrofilní část tvoří povrch micely. Těmto druhům kontrastních látek byla věnována pozornost v posledních 20 letech.[16] Pomalý rotační korelační čas u tohoto typu molekul se ukázal být klíčový ve snížení T_1 a T_2 relaxačních časů. Mimo to možnosti navěšení dalších funkčních skupin na lipofilní či hydrofilní část molekuly dává možnosti přípravy targetujících kontrastních látek, navíc je zde možnost přidružení dalších funkcí, např. sondy pro optické zobrazování a tím vytvořit kontrastní látku použitelnou pro více metod.[16] V roce 2009 Peng a jeho skupina publikovali sérii blokových kopolymerů, kde hydrofilní část byla tvořena polyakrylovou kyselinou a hydrofobní *n*-butylakrylátem kopolymerizovaným s částečně fluorovaným akrylátem či methakrylátem. Tyto kopolymery se ukázaly jako stabilní, mající vysoké zastoupení fluoru v hydrofobní části micely. Velikost těchto micel byla přibližně 20–45 nm. Při měření ^{19}F NMR spekter byl pozorován pouze jeden signál, což je velmi žádoucí, poněvadž by v praxi nebylo nutné použití širokospektrálního pulsu při získávání fantomových snímků.[20]

Dalším zkoumaným strukturním typem pro použití jako kontrastní látky pro fluorovou magnetickou rezonanci jsou dendrimerní struktury.[21] Dendrimery jsou skupina makromolekul o velikosti řádově nanometrů, které jsou dobře definované, s opakovanými motivy vycházející z jednoho centra. I u dendrimerů je možnost určité selektivity a tyto strukturní motivy otevírají další možnosti výzkumu, např. konjugací s targetující skupinou na periferii dendrimeru je možné připravit velice specifickou targetující kontrastní látku pro značení různých typů tkání.

Kontrastní látky, které mohou být přepnuty do polohy "zapnuto"/"vypnuto" dle prostředí, ve kterém se nacházejí, nazýváme jako "smart contrast agents".[16] Toto přepnutí může probíhat mnoha způsoby, např. změnou pH, přítomností specifického enzymu, koncentrací iontu kovu či koncentrací kyslíku. Tato kontrastní látka není účinná a detekovatelná, dokud se neseťká s konkrétním spouštěčem, proto zde existuje potenciál, že by kontrastní látky tohoto druhu mohly být extrémně specifické.

Archetyp takové látky je komplex gadolinia s 1-(2- β -galaktopyranosylethoxy)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan-4,7,10-trioctovou kyselinou.[22] Tento derivát Gd-DOTA nese "čepičku" galactopyranosy, která brání koordinaci vody. Ta je odštěpena, jakmile se tento komplex setká s β -galaktosidásou. Odštěpením galactopyranosy enzymem dojde k odstranění sterických zábran a molekula vody se může koordinovat na Gd^{3+} , čímž je umožněn přenos magnetické informace z iontu kovu na molekuly vody. Molekula je v tuto chvíli v poloze "zapnuto".

Již bylo zmíněno, že atom fluoru má dlouhý relaxační čas T_1 , který značně limituje použití pro tomografii magnetické rezonance, protože výrazně prodlužuje dobu měření. Tento relaxační čas se dá zkrátit pomocí paramagnetického iontu, který bude komplexován ligandem obsahujícím ^{19}F , přičemž design ligandu musí být navržen tak, aby atom fluoru byl v dostatečné blízkosti k paramagnetickému kovu. Tím dojde ke snížení T_1 relaxačního času jader fluoru, ke zkrácení doby měření a lepšímu poměru signál/šum. Problém je, že přítomnost paramagnetika snižuje také T_2 relaxační čas, což vede k rozšíření měřeného signálu, což může mít za následek naprosté vymizení měřeného signálu. Proto je struktura komplexu velmi důležitá. Atomy fluoru musí být dostatečně blízko, aby došlo k žádoucímu zkrácení T_1 relaxačního času, ale zároveň dostatečně daleko, aby nedošlo k naopak nežádoucímu zkrácení T_2 relaxačního času.

V roce 2008 publikoval Mizukami článek zabývající se kontrastní látkou, která je aktivovatelná pomocí kaspázy 3. Kaspáza 3 je enzym ze skupiny proteáz, která řídí apoptózu, což je jeden z hlavních typů řízené buněčné smrti. Kaspáza 3 je enzym rozpoznávající sekvenci Asp-X-X-Asp, kde Asp je kyselina asparagová, X volitelná aminokyselina.[17] Výzkum ukázal, jak cílená apoptóza určitých buněk společně s cíleným množením buněk vytváří embryonální tkáň živočichů. V průběhu této embryogeneze se z určitých částí embrya vylučuje signální molekula Shh ("Sonic hedgehog"). Buňky, na jejichž receptor se tato signální molekula naváže, pokračují v růstu a množení. Naopak na receptory buněk, na něž se žádné Shh nenašlo, se místo toho naváže kaspáza 3 a vyvolá ve výsledku celý proces apoptózy, kvůli němuž tato buňka zahyne. Dojde ke smrštění a fragmentaci buňky, což umožňuje fagocytosu a tím je možné stavební materiál z mrtvé buňky znovu použít.[23]

V první publikaci byl Mizukamim prezentován komplex Gd-DOTA-DEVD-Tfb, kde DEVD je sekvence Asp-Glu-Val-Asp a Tfb je perfluormethoxybenzyl. Tento komplex nevykazuje téměř žádný signál na ^{19}F NMR spektru, pokud je ovšem k roztoku

přidána kaspáza 3, je vidět nárůst signálu. To je způsobeno odštěpením perfluor-methoxyaminobenzenu z komplexu a tím prodloužením T_2 relaxačního času.[16] [17]

O rok později publikoval Mizukami podobnou látku, ovšem namísto perfluor-methoxybenzylu byl na konci sekvence navázán 4-trifluormethylkumarin (AFC). Tato látka prezentuje nový typ bifunkčních kontrastních látek, poněvadž 4-trifluormethylkumarin zároveň slouží jako fluorescenční značka. Myšlenka použití látky je zcela analogická. V běžném roztoku tato látka vykazuje téměř nulovou fluorescenci a dává nulový signál při měření ^{19}F MRI z důvodu přílišného snížení T_2 relaxačního času atomů fluoru. Jakmile se molekula setká s kaspázou 3, je 4-trifluormethylkumarin odštěpen a roztok začne vykazovat jak fluorescenci, tak silný MRI signál.[24][25]

Dále bylo v posledních letech publikováno několik prací zabývajících se paramagnetickými komplexy lanthanoidů značených fluorem, které mohou být považovány také za "smart contrast agents" kvůli jejich odezvě na změnu pH. Takové látky mají potenciál hlavně v onkologii, poněvadž tuhé nádory se projevují nízkým extracelulárním pH.[26]

Roku 2007 Senanayake referoval o sérii látek, které obsahují paramagnetický ion lanthanoidu a trifluormethylovou skupinu a které reagují na změnu pH. Tyto komplexy byly připraveny se záměrem snížení relaxačního času T_1 k docílení rychlejšího měření. Jeden z publikovaných ligandů odhalil koordinaci dusíku sulfoamidové skupiny jakožto odpovědi na změnu pH.[27]

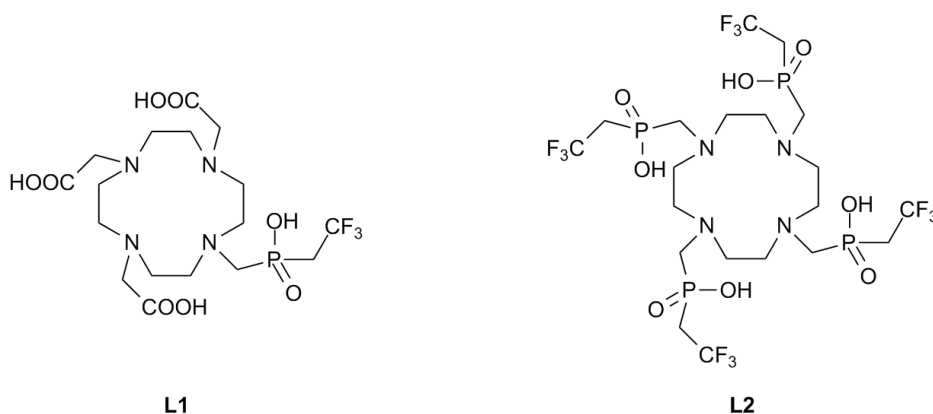
Na tyto práce navázaly další Parkerovy studie, jedna z nich se zabývala obdobnými komplexy lanthanoidů, které taktéž mají odezvu na změnu pH.[28][29]

2. Motivace a cíle práce

Tomografie magnetické rezonance je jednou z nejrozšířenější zobrazovacích metod dnes používaných v medicíně. Klinická vyšetření nejčastěji k zobrazení vnitřních orgánů a tkání využívají atomy ^1H . Za účelem zvýšení kontrastu mezi různými tkáněmi nebo mezi zdravou a patologickou tkání jsou využívány kontrastní látky, které ovlivňují intenzitu signálu atomů ^1H v molekule vody. V některých případech však ani tyto kontrastní látky nepřinášejí požadované zvýšení kontrastu zobrazení. Tuto komplikaci je možné obejít použitím kontrastních látek s obsahem atomů ^{19}F , které poskytují jedinečný signál a neomylně tak lokalizují pozici kontrastní látky ve zkoumaném subjektu, jelikož atomy ^{19}F vyskytující se v lidském těle jsou prakticky všechny pevně vázány ve formě fluoroapatitu a nelze metodou magnetické rezonance zobrazit. Jedinou nevýhodou je poněkud dlouhý relaxační čas jader atomů ^{19}F , který však může být zkrácen vlivem paramagnetických iontů kovů.

Proto si předložená bakalářská práce klade za cíl přípravu a studium dvou makrocyclických ligandů s fosforovým pendantním ramenem obsahující atomy ^{19}F a přípravu jejich komplexů s trojmocnými kovy z řady lanthanoidů s potenciálním využitím jakožto kontrastních látek pro ^{19}F MRI.

Byly navrženy dva ligandy, zobrazeny na Obr. 2.1, odvozené od struktury 1,4,7,10-tetrakis(karboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekanu.



Obr. 2.1: Nové ligandy s potenciálním využitím pro ^{19}F MRI navržené pro tuto práci

3. Experimentální část

3.1 Seznam použitých chemikálií

Komerčně dostupné chemikálie a rozpouštědla byly produkty firem Fluka, Lach-Ner, Chematech, Sigma Aldrich, Strem Chemicals, Agros Organics a Penta. S výjimkou diethyletheru a THF nebyly chemikálie dále čištěny ani sušeny.

Chemikálie

1,1,1-trifluor-2-jodoethan	Sigma Aldrich
cyklen.....	Chematech
fosforan sodný.....	Sigma Aldrich
hexamethyldisilazan.....	Agros Organics
hydroxid sodný	Penta
chlorid ceritý hexahydrát	Sigma Aldrich
chlorid dysprositý hexahydrát.....	Strem Chemicals
chlorid erbitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid europitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid gadolinitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid holmitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid lanthanitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid lutecitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid neodymitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid praseodymitý hexahydrát.....	Strem Chemicals
chlorid samaritý hexahydrát.....	Strem Chemicals
chlorid terbitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid thulitý hexahydrát	Strem Chemicals
chlorid ytterbitý hexahydrát.....	Strem Chemicals
jód	LACHEMA
kyselina fosforná.....	Aldrich
kyselina chlorovodíková, 36% vodný roztok	Lach-Ner
kyselina trifluoroctová	Sigma Aldrich
<i>N,N</i> -ethyl-diisopropylamin	Fluka
paraformaldehyd (odfiltrován ze starých roztoků formaldehydu)	PřF UK
<i>t</i> Bu ₃ DO ₃ A·HBr	připraveno dle lit.[30]

trimethylsilylchlorid..... Fluka

Rozpouštědla

amoniak, 25% vodný roztok..... Lach-Ner

diethylether, suchý Lach-Ner

DCM (dichlormethan)..... Lach-Ner

EtOH lihovar Kolín

CHCl₃..... Lach-Ner

*i*PrOH Lach-Ner

MeOH Lach-Ner

THF (tetrahydrofuran), suchý Lach-Ner

voda, deionizovaná PĚF UK

Deuterovaná rozpouštědla pro měření NMR spekter

D₂O, 99,8 % D

Iontoměniče a sorbenty

silikagel, Silicagel 60–230 mesh

silný aniontový iontoměnič, Dowex 1, 100–200 mesh

silný kationtový iontoměnič, Dowex 50, 50–100 mesh

Detekční činidla pro TLC

Ninhydrin, 0,5% ethanolický roztok

CuSO₄, 10% vodný roztok

3.2 Metody charakterizace

3.2.1 NMR spektroskopie

Veškerá měření NMR ¹H, ¹³C, ¹⁹F a ³¹P spekter byla provedena na spektrometru VNMR300 a spektrometru Bruker Avance (III) 600. Veškeré hodnoty chemických posunů δ jsou uvedeny v jednotkách ppm a jsou zaokrouhleny na dvě desetinná místa. Interakční konstanty J jsou uvedeny v jednotkách Hz a jsou zaokrouhleny na tři platné cifry. Multiplicita signálů byla označena následujícími zkratkami: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), p (pentet), m (multiplet), br (široký). Některá ³¹P spektra a

všechna ^{13}C spektra byla měřena s dekaplinkem vodíkových jader. NMR spektra byla měřena při teplotě 25 °C. Chemické posuny v ^1H a ^{13}C spektrech byly referencovány na interní standard *t*BuOH při měření v D_2O ($\delta_{\text{H}} = 1,25$; $\delta_{\text{C}} = 29,13$). Při měření ^{31}P spekter byl jako externí standard použit 85% roztok H_3PO_4 v D_2O ($\delta_{\text{P}} = 0,00$), při měření ^{19}F spekter byl použit externí standard roztok CF_3COOH v D_2O ($\delta_{\text{F}} = -76,55$).

Ke stanovení koncentrace komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfc}})]^-$ byla použita Evansova metoda BMS.[31]

3.2.2 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektra byla měřena na hmotnostním spektrometru Bruker ESQUIRE 3000 ES-iontrap s detekcí v pozitivním i negativním modu. Vzorky byly rozpuštěny v MeOH a ředěny mobilní fází (MeCN nebo MeOH).

U charakterizací jednotlivých látek jsou uvedeny pouze signály, které se podařilo interpretovat.

3.2.3 Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na destičkách TLC aluminium sheets silica gel 60 F₂₅₄ (Merck). Příslušné mobilní fáze a metody detekce jsou uvedeny vždy u jednotlivých látek. Hodnoty R_f jsou uvedeny na dvě desetinná místa.

3.2.4 Elementární analýza

Elementární analýza byla provedena na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR v Praze na analyzátoru Perkin Elmer 2400. Hmotnostní procenta jsou uváděna na dvě desetinná místa.

3.2.5 Luminiscenční spektroskopie

Luminiscenční spektroskopie byla prováděna na přístroji AMINCO Bowman[®] Series 2.

3.3 Syntetická část

3.3.1 Syntéza 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny

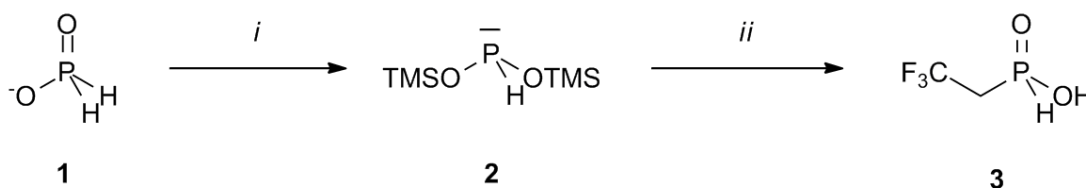


Schéma 3.1: Syntéza 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny: reakční podmínky viz Tabulka 3.1

Tabulka 3.1: Reakční podmínky syntézy 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny

Metoda	<i>i</i>	<i>ii</i>
A	HMDS/120 °C	CF ₂ CH ₂ I/DCM, -40 °C
B	DIPEA,(CH ₃) ₃ SiCl/DCM, -40 °C	CF ₂ CH ₂ I/DCM, -40 °C

Metoda A

Do 250mL trojhrdlé baňky s kulatým dnem bylo naváženo 10,02 g (120,4 mmol) NH₄(H₂PO₂), aparatura byla sekurována a skrze septum bylo jehlou za stálého míchání přidáno 50 mL HMDS. Suspenze byla míchána přes noc pod zpětným chladičem při teplotě 100 °C. Byl pozorován vznik bíle zakaleného viskózního roztoku bis(trimethylsilyl)fosfinu (**2**), který byl ochlazen na laboratorní teplotu. Skrze septum bylo k reakční směsi přidáno 70 mL suchého DCM a směs byla pomocí lázně ethanol-suchý led vychlazena na -40 °C. Následně bylo do reakční směsi přidáno celkem 27,81 g (132,5 mmol, 1,1 ekv.) CF₃CH₂I rozpuštěného v 70 mL suchého DCM. Směs byla ponechána v proudu argonu po 2 dny. K reakční směsi bylo přidáno 50 mL MeOH. Suspenze byla odpařena do sucha na RVO. Bílá hmota byla rozpuštěna v 50 mL MeOH a znovu odpařena do sucha na RVO. Odparek byl tentokrát rozpuštěn v minimálním množství destilované vody a přečištěn na silném aniontovém iontoměniči (Dowex 1, 100–200 mesh, OH⁻ cyklus, 5x25 cm). Část nečistot byla odstraněna promýváním vodou. Produkt byl eluován 3% aq. HCl. Eluát byl odpařen do sucha na RVO. Vzniklý nažloutlý olej byl dočištěn sloupcovou chromatografií na SiO₂ (80 g SiO₂, IPAV 5:1:1, R_f(**2**) = 0,80). Frakce obsahující pouze produkt **2** byly spojeny a odpařeny do sucha na RVO. Odparek byl rozpuštěn v minimálním množství destilované vody a převrstven malým množstvím suchého diethyletheru. Druhý den byla vzniklá sraženina NH₄I

odfiltrována na fritě S3 a eluát odpařen dosucha na RVO. Produkt byl dočištěn aniontovou chromatografií (Dowex 1, 100–200 mesh, 5x25 cm). Produkt ve formě čisté kyseliny byl eluován 3% aq. HCl. Eluát byl odpařen do sucha na RVO. Bylo získáno 3,95 g žlutohnědého oleje (což přibližně odpovídá 22 % teoretického výtěžku).

Metoda B

Do 250mL trojhrdlé baňce s kulatým dnem bylo naváženo 4,01 g (60,75 mmol) H_3PO_2 , aparatura byla sekurována a skrze septum bylo jehlou za stálého míchání a chlazení v lázni voda-led přidáno 100 mL suchého DCM, 31,34 g (242,5 mmol, 4 ekv.) DIPEA a 26,31 g (242,1 mmol, 4 ekv.) trimethylsilylchloridu. Suspenze byla míchána zhruba 2 hodiny. Byl pozorován vznik bíle zakaleného viskózního roztoku bis(trimethylsilyl)fosfinu (**2**). Směs byla pomocí lázně ethanol-suchý led vychlazena na $-40\text{ }^\circ\text{C}$. Následně bylo do reakční směsi přidáno celkem 13,82 (65,7 mmol, 1,1 ekv.) $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{I}$ rozpuštěného v 50 mL suchého DCM. Směs byla ponechána v proudu argonu po 2 dny. K reakční směsi bylo přidáno 50 mL MeOH. Suspenze byla odpařena do sucha na RVO. Bílá hmota byla rozpuštěna v 50 mL MeOH a znovu odpařena do sucha na RVO. Odparek byl tentokrát rozpuštěn v minimálním množství destilované vody a přečištěn na silném aniontovém iontoměnič (Dowex 1, 100–200 mesh, OH^- cyklus, 5x25 cm). Část nečistot byla odstraněna promýváním vodou. Produkt byl eluován 3% aq. HCl. Eluát byl odpařen do sucha na RVO. Vzniklý nažloutlý olej byl dočištěn sloupcovou chromatografií na SiO_2 (80 g SiO_2 , IPAV 5:1:1, $R_f(\mathbf{2}) = 0,80$). Frakce obsahující pouze produkt **2** byly spojeny a odpařeny do sucha na RVO. Odparek byl rozpuštěn v minimálním množství destilované vody a převrstven malým množstvím diethyletheru. Druhý den byla vzniklá sraženina NH_4I odfiltrována na fritě S3 a eluát odpařen dosucha na RVO. Produkt byl dočištěn aniontovou chromatografií (Dowex 1, 100–200 mesh, 5x25 cm), produkt ve formě čisté kyseliny byl eluován 3% aq. HCl. Eluát byl odpařen do sucha na RVO. Bylo získáno 2,10 g žlutohnědého oleje (což přibližně odpovídá 24 % teoretického výtěžku).

Charakterizace:

TLC: IPAV 5:1:1, $R_f = 0,80$, detekce ninhydrinem.

^1H NMR (299,941 MHz, D_2O): δ 2.80 (2H, m); 7,21 (1H, d, $^1J_{\text{HP}} = 566$ Hz)

^{31}P NMR (121,422 MHz, D_2O): 14,76 (1P, dm, $^1J_{\text{PH}} = 566$ Hz)

^{19}F NMR (282,187 MHz, D_2O): $-58,67$ (3F, q, $^3J_{\text{FH}} = ^3J_{\text{FP}} = 12,1$ Hz)

3.3.2 Syntéza 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trioctové-10-methyl(trifluorethyl)fosfinové kyseliny (DO3A^{tfe})

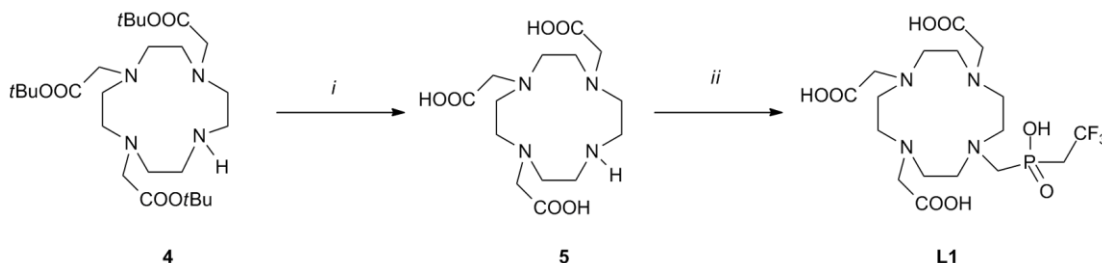


Schéma 3.2: Syntéza DO3A^{tfe} : *i* TFA/ CHCl_3 , 75 °C; *ii* **3**, $(\text{CH}_2\text{O})_n$ / HCl (1:1), 60 °C

Do 50mL baňky bylo naváženo 2,05 g (3,45 mmol) *t*Bu₃DO3A·HBr (**4**). Navážka byla rozpuštěna v 10 mL destilované vody a do roztoku bylo přidáno 10,0 mL TFA a 10,0 mL CHCl_3 . Směs byla přes noc zahřívána na 75 °C pod zpětným chladičem opatřeným sušicí rourkou. Druhý den byl obsah baňky odpařen do sucha na RVO, odparek rozpuštěn v 10 mL směsi HCl:voda 1:1 a roztok znovu odpařen do sucha. Odparek byl opět rozpuštěn v 10 mL směsi HCl:voda 1:1 a do roztoku bylo přidáno 1,02 g (6,89 mmol, 2 ekv.) 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny (**3**) a 0,29 g (9,9 mmol, 2,8 ekv.) $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Reakční směs byla okyselena konc. HCl na pH 1. Baňka byla uzavřena plastovou zátkou a reakční směs byla míchána při teplotě 60 °C 3 dny. Reakční směs byla odpařena do sucha a rozpuštěna v minimálním množství vody. Směs byla přečištěna na kationtovém iontoměniči (Dowex 50, 50–100 mesh, H^+ cyklus, 3x40 cm). Nečistoty byly eluovány vodou, produkt byl eluován 5% roztokem $\text{NH}_3(\text{aq})$. Eluát byl odpařen do sucha a rozpuštěn v minimálním množství vody. Roztok byl přečištěn na silném aniontovém iontoměniči (Dowex 1, 100–200 mesh, OH^- cyklus, 5x25 cm). Produkt byl eluován 3% aq. HCl. Eluát byl odpařen do sucha na RVO. Odparek byl suspendován v suchém THF a ponechán dva dny míchat. Tmavě žlutá pevná látka byla odsáta na fritě S3 a rozpuštěna v malém množství vody. K roztoku bylo přidáno aktivní uhlí a směs byla zahřívána na 80 °C zhruba hodinu. Roztok byl zfiltrován před filtrační papír a filtrát odpařen do sucha. Odparek byl suspendován v suchém THF a ponechán míchat 2 dny. Bílá sraženina byla odsáta na fritě S3 a vysušena *in vacuo*. Celkem bylo získáno 1,14 g produktu **L1**, což odpovídá 50 % teoretického výtěžku.

Charakterizace:

TLC: IPA/V 7:3:3, $R_f = 0,72$, detekce CuSO_4 , 10% vodný roztok

^1H NMR (299,941 MHz, D_2O): δ 2,64 (2H, p, $^2J_{\text{HP}} = ^3J_{\text{HF}} = 15\text{Hz}$, PCH_2CF_3); 2,9–3,5 (18H, NCH_2P a $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,61 (2H, s, NCH_2COOH); 3,68 (4H, s, NCH_2COOH)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (150,928 MHz, D_2O): δ 36,10 (1C, d, $^1J_{\text{CP}} = 60,37\text{ Hz}$, PCH_2CF_3); 47,1–52,6 (8C, br, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 53,6 (1C, d, $^1J_{\text{CP}} = 96,6\text{ Hz}$, NCH_2P); 53,6 (2C, s, NCH_2COOH); 54,7 (1C, s, NCH_2COOH); 125,0 (1C, q, $^1J_{\text{CF}} = 276\text{ Hz}$, CH_2CF_3); 173,3 (3C, s, CH_2COOH)

^{31}P NMR (121,422 MHz, D_2O): δ 20,8 (1P, br)

^{19}F NMR (282,187 MHz, D_2O): δ -56,9 (3F, s)

MS-ESI: (+): 528,6 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 529,2); 544,6 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, 545,1)

MS-ESI: (-): 504,4 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 505,2); 526,4 ($[\text{M}-2\text{H}+\text{Na}]^-$, 527,2); 542,4 ($[\text{M}-2\text{H}+\text{K}]^-$, 543,2);

Elementární analýza: nalezeno (vypočteno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_8\text{P}\cdot 3,5\text{HCl}$, $M_r = 633,80$):
C: 32,53 (32,21), H: 5,46 (5,33), N: 8,67 (8,84)

3.3.3 Syntéza 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetrakis[methyl(trifluorethyl)fosfinové kyseliny] (DOTP^{tfé})

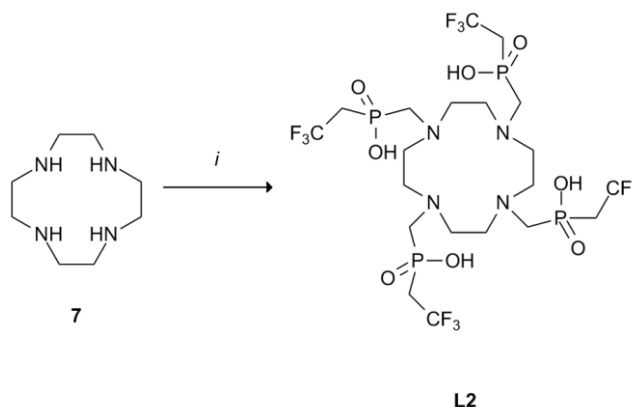


Schéma 3.3: Syntéza DOTP^{tfé}: i 3, $(\text{CH}_2\text{O})_n/\text{HCl}$ (1:1), 60 °C

Do 50mL baňky bylo naváženo 0,40 g (2,32 mmol) cykľenu (7). Navážka byla rozpuštěna v 20 mL deionizované vody a do roztoku bylo přidáno 2,75 g (18,58 mmol, 8 ekv.) 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny (3) a 0,7 g (23,31 mmol, 10 ekv.) $(\text{CH}_2\text{O})_n$.

Reakční směs byla okyselena konc. HCl na pH 1. Baňka byla uzavřena plastovou zátkou a reakční směs byla míchána při teplotě 60 °C 3 dny. Reakční směs byla odpařena do sucha a rozpuštěna v minimálním množství vody. Směs byla přečištěna na kationtovém iontoměniči (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺ cyklus, 3x40 cm). Produkt byl eluován vodou, byly jímány frakce po 50 mL. Frakce obsahující produkt byly spojeny a odpařeny do sucha na RVO. Odparek byl suspendován v suchém THF a ponechán dva dny míchat. Bílá sraženina produktu **L2** byla odsáta na fritě S3 a vysušena *in vacuo*. Celkem bylo získáno 1,32 g produktu, což odpovídá 64 % teoretického výtěžku.

Charakterizace:

TLC: IPA V 7:3:3, $R_f = 0,95$, detekce CuSO₄, 10% vodný roztok

¹H NMR(299,941 MHz, D₂O): δ 2,74 (8H, p, $^2J_{HP} = ^3J_{HF} = 12$ Hz, PCH₂CF₃); 3,33 (8H, s, PCH₂N); 3,45 (16H, s, NCH₂CH₂N)

¹³C{¹H} NMR (150,928 MHz, D₂O): δ 35,27 (4C, d, $^1J_{CP} = 58,86$ Hz, PCH₂CF₃); 51,14 (8C, s, NCH₂CH₂N); 52,58 (2C, d, $^1J_{CP} = 101$ Hz, NCH₂P); 125,2 (4C, q, $^1J_{CF} = 274,70$ Hz CH₂CF₃)

³¹P NMR (121,422 MHz, D₂O): δ 21,8 (4P, br)

¹⁹F NMR (282,187 MHz, D₂O): δ -58,06 (12F, m)

MS-ESI: (-): 832,6 ([M-2H+Na]⁻, 833,1); 848,6 ([M-2H+K]⁻, 849,5)

Elementární analýza: nalezeno (vypočteno pro C₂₀H₃₆F₁₂N₄O₈P₄·2HCl, $M_r = 885,05$):
C: 27,20 (27,14), H: 4,22 (4,33), N: 6,25 (6,33)

3.3.4 Příprava [Ln^{III}(DOTP^{tf}e)]⁻

Do 4mL skleněné vialky bylo naváženo 50 mg (0,06 mmol) **L2** a 1,5 ekv. (0,09 mmol) hexahydrátu chloridu Ln^{III}. Navážky byly rozpuštěny v 2 mL deionizované vody a do roztoku přidány dvě kapky roztoku bromkrezolové zeleně. Po rozpuštění navážek bylo upraveno pH pomocí 5% roztoku NaOH na změnu barvy (odpovídá pH okolo 5,5). Za stálého míchání byl roztok zahříván po dobu 3 dnů, po celou dobu bylo udržování pH nad 5,5. Roztok byl následně odpařen do sucha na RVO a rozpuštěn v minimálním množství vody. Komplex byl přečištěn na kationtovém iontoměniči (Dowex 50, 50–100 mesh, H⁺ cyklus, 1x3 cm), produkty byl eluován vodou. Eluát byl odpařen do sucha na RVO a rozpuštěn v 4 mL vody.

Koncentrace komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ byla stanovena Evansovou metodou BMS.[31]

Charakterizace:

Pro větší přehlednosti jsou charakterizace komplexů uvedeny v Tabulkách 3.2 (charakterizace MS-ESI) a 3.3–4 (charakterizace NMR)

Tabulka 3.2: Charakterizace komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ pomocí MS-ESI

komplex	MS-ESI(-)
$[\text{La}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	946,6 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 947,0)
$[\text{Ce}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	947,6 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 948,0)
$[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	960,6 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 961,0)
$[\text{Dy}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	971,6($[\text{M}-\text{H}]^-$, 972,0)
$[\text{Tm}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	976,7 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 977,0)
$[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	981,7 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 982,0)

Tabulka 3.3: Charakterizace komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ pomocí ^1H NMR při 25 °C; pokud není uvedeno jinak, signál odpovídá intenzitě jednoho atomu vodíku

komplex	δ ^1H MRI (299,941 MHz, D_2O)
$[\text{La}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	2,34 (1H, d, $J = 11$ Hz); 2,50 (1H, d, $J = 11$ Hz); 2,77 (2H, m); 3,15 (1H, q, $J = 12$ Hz); 3,47 (2H, br); 3,57 (1H, m)
$[\text{Ce}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-10,99 (s); 0,04 (s); 1,11 (s); 3,69 (s); 4,03 (s); 6,22 (s); 7,50 (s); 7,84 (s)
$[\text{Pr}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-28,78 (s) ; -1,64 (s); 0,80 (s); 7,69 (s); 9,48 (s); 12,06 (s); 13,49 (s); 24,63 (s)
$[\text{Nd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-12,33 (s) ; 3,64 (s); 4,05 (s); 6,28 (s); 7,74 (s); 9,09 (s); 9,64 (s); 13,70 (s)
$[\text{Sm}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	1,15 (s); 1,19 (s); 1,47 (s); 2,18 (s); 2,97 (s); 3,87 (s); 4,01 (s); 7,01 (s)
$[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-10,61 (s); -9,10 (s); -5,69 (s); -3,41 (s); -1,82 (s); 0,33 (s); 3,16 (s); 24,51 (s)
$[\text{Gd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	- ^a
$[\text{Tb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-105,39 (s); -97,39 (s); -8,53 (s); 10,65 (s); 61,28 (s); 123,02 (s); 177,44 (s); 352,38 (s)
$[\text{Dy}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-411,67 (s); -186,76 (s); -83,45 (s); -79,20 (s); -6,12 (s); 53,27 (s); 113,53 (s); 162,56 (s)
$[\text{Ho}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-193,21 (s) ; -40,14 (s); -37,39 (s); -1,71 (s); 25,69 (s); 53,88 (s); 82,20 (s); 150,11 (s)
$[\text{Er}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-172,87 (s); -89,07 (s); -75,55 (s); -17,69 (s); 9,04 (s); 18,12 (s); 26,20 (s); 42,53 (s)
$[\text{Tm}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-190,91 (s); -155,51 (s); -38,16 (s); 0,04 (s); 35,05 (s); 69,18 (s); 88,56 (s); 201,85 (s)
$[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-58,46 (s); -30,83 (s); -24,27 (s); 3,11 (s); 8,30 (s); 13,57 (s); 17,93 (s); 91,77 (s)
$[\text{Lu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	2,54 (1H, d, $J = 9$ Hz); 2,72 (1H, d, $J = 9$ Hz); 2,82 (1H, d, $J = 15$ Hz); 3,06 (2H, m); 3,47 (2H, br); 3,62 (1H, m)

^a – u komplexu $[\text{Gd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ nebyly pozorovány žádné přiřaditelné signály

Tabulka 3.4: Charakterizace komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ pomocí ^{31}P NMR a ^{19}F NMR při 25 °C

komplex	δ ^{31}P NMR	δ ^{19}F NMR
	(121,422 MHz, D ₂ O)	(282,187 MHz, D ₂ O)
$[\text{La}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	30,52 (4P, s)	-54,768 (12F, m)
$[\text{Ce}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	22,34 (4P, s)	-56,454 (12F, m)
$[\text{Pr}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	19,33 (4P, s)	-54,975 (12F, m)
$[\text{Nd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	- ^a	-56,077 (12F, m)
$[\text{Sm}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	41,30 (4P, s)	-57,448 (12F, m)
$[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	67,10 (4P, s)	-58,881 (12F, m)
$[\text{Gd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	24,25 (4P, s)	-55,588 (12F, m)
$[\text{Tb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	- ^a	-39,410 (12F, m)
$[\text{Dy}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	407,31 (4P, s)	-40,995 (12F, m)
$[\text{Ho}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	205,54 (4P, s)	-49,536 (12F, m)
$[\text{Er}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-132,01 (4P, s)	-61,027 (12F, m)
$[\text{Tm}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-317,41 (4P, s)	-65,929 (12F, m)
$[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	-37,50 (4P, s)	-58,795 (12F, m)
$[\text{Lu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	34,21 (4P, s)	-57,750 (12F, m)

^a - u těchto komplexů nebyl v ^{31}P NMR spektru naměřen žádný signál

4. Výsledky a diskuze

4.1 Syntéza 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny

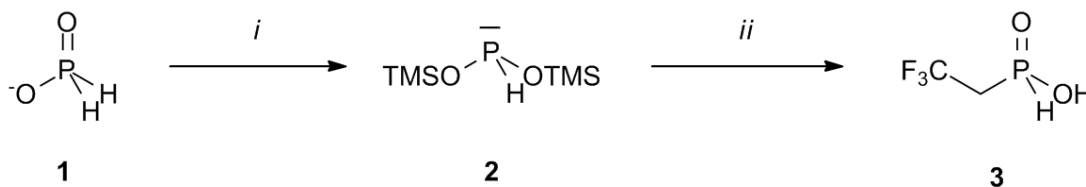
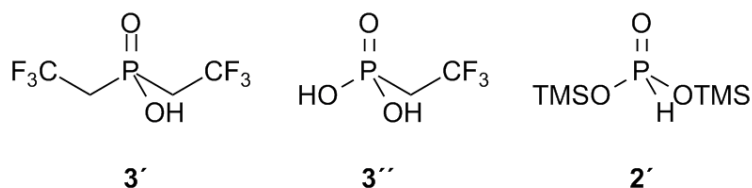


Schéma 4.1: Příprava kyseliny trifluorethylfosfinové

2,2,2-trifluoroethylfosfinová kyselina (**3**) byla připravena dvojestupňovou syntézou. V prvním kroku byl *in situ* připraven reaktivní bis(trimethylsilyl)fosfin (**2**). Druhým krokem je jeho alkylace 2,2,2-trifluoroethyl-1-jodidem a následná hydrolyza esterových skupin methanolem. Bis(trimethylsilyl)fosfin (**2**) je možné připravit dvěma způsoby – prvním z nich je reakce fosforanu amonného a hexamethyldisilazanu, druhá možnost je reakce kyseliny fosforné s trimethylsilylchloridem v prostředí ethyldiisopropylaminu. Výhoda druhého postupu je jeho menší časová náročnost, kdy se nemusí reakce nechávat reagovat přes noc, ale je možné přejít k dalšímu kroku syntézy již po 2 hodinách. Další kroky přípravy látky **3** jsou již totožné.

Bis(trimethylsilyl)fosfin lze alkylovat do dvou stupňů; reakční směs obsahuje kromě látky **3** také bis(2,2,2-trifluoroethyl)fosfinovou kyselinu (**3'**), viz Obr. 4.1.



Obr. 4.1: Vedlejší produkty syntézy 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny

Naměřená NMR spektra však ukázala velmi zanedbatelné množství tohoto vedlejšího produktu (v řádech max. jednotek procent). Také bylo pozorováno, že jistý podíl látky **2** nereaguje ani při použití většího nadbytku alkylačního činidla, což někdy vede k přítomnosti kyseliny fosforné v reakční směsi. Byly vyzkoušeny reakce s 1,0; 1,1; 1,5 a 2,0 ekv. alkylačního činidla, přičemž nebyl pozorována žádná korelace mezi množstvím použitého alkylačního činidla a obsahu kyseliny fosforné či fosforité ve výsledné směsi. dle NMR spekter byl podíl kyselin fosforné a fosforité v řádu jednotek

procent. Proměnlivost obsahu kyseliny fosforené a fosforité ve výsledné směsi se nejspíše odvíjí od suchosti použitých chemikálií.

V přítomnosti oxidačních činidel (např. vzdušný kyslík) může docházet k oxidaci 2,2,2-trifluorethylfosfinové kyseliny (**3**) za vzniku 2,2,2-trifluorethylfosfonové kyseliny (**3''**). Bis(trimethylsilyl)fosfin (**2**) může být také oxidován na bis(trimethylsilyl)fosfinoxid (**2'**). Oba kroky syntézy tedy musí probíhat v inertní atmosféře, neboť jak bis(trimethylsilyl)fosfin, tak silylestery fosfinových kyselin jsou velice citlivé na oxidaci (bis(trimethylsilyl)fosfin je samozápalný) a na vlhkost (dochází k hydrolyze trimethylsilylesterové skupiny).

Kyselinu fosforitou a látky **3'** a **3''** lze snadno odstranit sloupcovou chromatografií na SiO₂. V případě, kdy byl produkt kontaminován kyselinou fosforenou, se však kyselinu fosforenou oddělit nepodařilo; protože pro další postup bylo třeba odstranit vedlejší produkty této reakce obsahující P–H vazbu, byla jako metoda odstranění kyseliny fosforené zvolena mírná oxidace jódem na kyselinu fosforitou. Bylo zjištěno, že jód přednostně oxiduje kyseliny fosforenou, zatímco látka **3** zůstává nezměněna. Vzniklá kyselina fosforitá je již snadno odstranitelná sloupcovou chromatografií.

Ze směsi je ovšem nutné odstranit kromě vedlejších produktů obsahující P–H vazbu také jodidové anionty, které se v reakční směsi generují jednak z alkylačního činidla (byl použit 1,1,1-trifluor-2-jodethan) a také přidavkem elementárního jódu používaného k oxidaci kyseliny fosforené na kyselinu fosforitou. Jodidové ionty je nutné odstranit, poněvadž při použití produktu **3** k dalším reakcím se při zahřívání reakční směsi oxidují jodidové anionty zpět na elementární jód, který následně oxiduje látku **3** za vzniku 2,2,2-trifluorethylfosfonové kyseliny (**3''**). Odstranění jodidových aniontů bylo prováděno převrstvením dosucha odpařené amonné soli **3** suchým diethyletherem.

Izolovaný výtěžek reakce se pohybuje kolem 20–24 % (za předpokladu, že izolovaný olej je pouze produkt, který obsahuje pouze malé množství nečistot nedetekovatelných pomocí NMR), nezávisle na zvolení způsobu generování reaktivního bis(trimethylsilyl)fosfinu (**2**). Samotný bis(trimethylsilyl)fosfin nebyl izolován, neboť je na vzduchu samozápalný, byl proto generován pouze *in situ*.

2,2,2-trifluorethylfosfinová kyselina (**3**) byla získána pouze ve formě žlutého vazkého oleje. Při skladování ve formě amonné soli je i v koncentrovaném vodném

roztoku na vzduchu zcela stálá. Ve formě čisté kyseliny podléhá látka oxidaci P–H vazby za vzniku 2,2,2-trifluorethylfosfonové kyseliny (**3''**).

4.2 Syntéza DO3AP^{tfe}

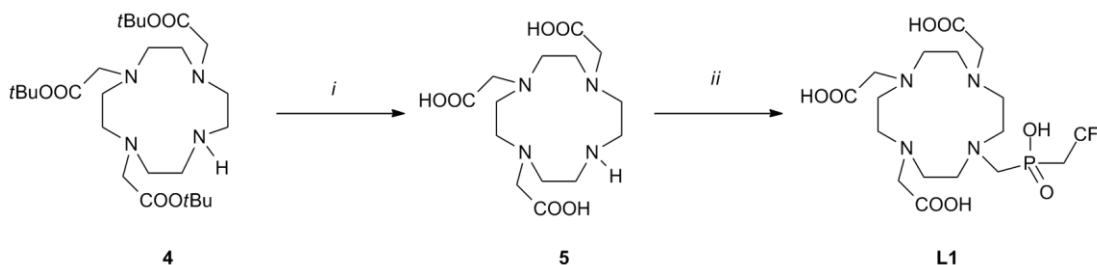


Schéma 4.2: Syntéza DO3AP^{tfe}

V prvním kroku syntézy dochází ke kyselému odštěpení *t*Bu skupin, přičemž meziprodukt není nijak čištěn a izolován. V druhém kroku je využito Mannichovy reakce v prostředí 1:1 aq. HCl.[32] Potřebné kyselé prostředí zajistila kyselina chlorovodíková a nadbytek látky **3**.

Byl vyzkoušen pouze jeden postup, který vedl k uspokojivému 50% výtěžku.

4.3 Syntéza DOTP^{tfe} a příprava [Ln^{III}(dotp^{tfe})]⁻

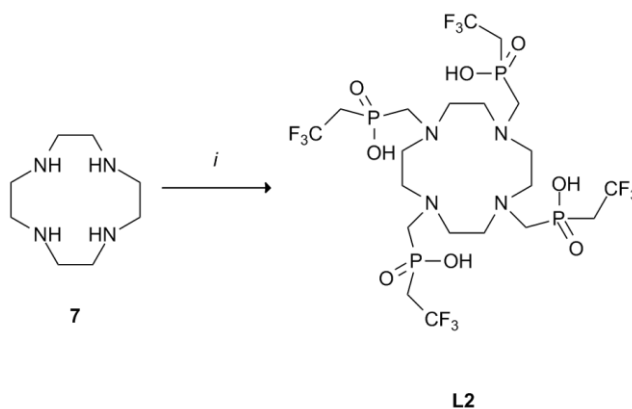


Schéma 4.3: Syntéza DOTP^{tfe}

Při přípravě tohoto ligandu bylo taktéž využito Mannichovy reakce v 1:1 aq. HCl,[32] kdy byl reaktant **3** přidán v nadbytku. Pomocí NMR spekter byla zjištěna přítomnost méně substituovaných cyklů. Kromě tetrasubstituovaného produktu byl nejvíce zastoupen trisubstituovaný makrocyklus; všechny vedlejší produkty jsou snadno oddělitelné od ligandu **L2** sloupcovou chromatografií na silném kationtovém

iontoměnič. Syntéza probíhá s 60–65% výtěžky. V Tabulce 4.1 je uvedena orientační NMR titrace volného ligandu DOTP^{tfe}, tedy závislost chemických posunů signálů na pH. Ze změny chemických posunů ve spektrech ¹H a ³¹P NMR je patrná postupná deprotonizace aminoskupiny makrocyclu s rostoucím pH roztoku.

Tabulka 4.1: Orientační NMR titrace volného ligandu DOTP^{tfe}

Ligand DOTP ^{tfe}			
pH	δ ¹ H NMR (299,941 MHz)	δ ³¹ P NMR (121,422 MHz)	δ ¹⁹ F NMR (282,187 MHz)
0,96	2,85 (8H, dk, ² J _{HP} = 23,7 Hz, ³ J _{HF} = 12 Hz, PCH ₂ CF ₃); 3,41 (8H, s, PCH ₂ N); 3,48 (16H, s, NCH ₂ CH ₂ N)	25,05 (4P, br)	-58,2 (12F, td, ³ J _{FH} = 12 Hz, ³ J _{FP} = 7 Hz)
3,15	2,75 (8H, m, PCH ₂ CF ₃); 3,38 (8H, s, PCH ₂ N); 3,46 (16H, s, NCH ₂ CH ₂ N)	21,81 (4P, br)	-58,2 (12F, td, ³ J _{FH} = 12 Hz, ³ J _{FP} = 8 Hz)
5,73	2,74 (8H, m, PCH ₂ CF ₃); 3,32 (8H, s, PCH ₂ N); 3,45 (16H, s, NCH ₂ CH ₂ N)	22,10 (4P, br)	-58,1 (12F, td, ³ J _{FH} = 11 Hz, ³ J _{FP} = 8,5 Hz)
8,95	2,68 (8H, m, PCH ₂ CF ₃); 3,14 (8H, s, PCH ₂ N); 3,19 (16H, s, NCH ₂ CH ₂ N)	25,22 (4P, br)	-57,9 (12F, td, ³ J _{FH} = 11,3 Hz, ³ J _{FP} = 8,5 Hz)
12,06	2,65 (8H, m, PCH ₂ CF ₃); 2,86 (8H, s, PCH ₂ N); 2,92 (16H, d, ¹ J _{HH} = 5,8 Hz, NCH ₂ CH ₂ N)	28,12 (4P, br)	-57,8 (12F, td, ³ J _{FH} = 14,1 Hz, ³ J _{FP} = 8,5 Hz)

Příprava komplexů [Ln^{III}(dotp^{tfe})]⁻ probíhala v mírně kyselém prostředí po dobu 3 dnů. Byl použit přebytek soli Ln^{III}, nadbytek iontů kovů byl poté odstraněn chromatografií na silném kationtovém iontoměnič. Tento způsob čištění poukazuje

na fakt, že komplexy $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ jsou stálé i při velmi nízkém pH (pH ~ 1) a nedochází k dekomplexaci iontů.

Tuto domněnku potvrdily orientační NMR titrace (měřena byla jádra ^1H , ^{19}F a ^{31}P) komplexů $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ a $[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$, kdy při pH 1 byly pozorovány pouze signály komplexu, nikoliv směsi komplexu a volného ligandu; další spektra byla naměřena při pH 3; 5; 6-8; 9 a 12; i v těchto spektrech byly pozorovány pouze signály komplexu, nikoliv volného ligandu. Charakterizace spekter jsou uvedeny v Tabulkách 4.2–3.

Tabulka 4.2: Orientační NMR titrace komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$

Komplex $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$			
pH	$\delta ^1\text{H}$ NMR	$\delta ^{31}\text{P}$ NMR	$\delta ^{19}\text{F}$ NMR
1,03	-10,20 (s); -8,76 (s); -5,43 (s); -3,06 (s); -1,52 (s); 0,65 (s); 3,46 (s); 24,73 (s)	68,05 (4P, s)	-58,4 (12F, br)
3,07	-10,04 (s); -8,51 (s); -5,11 (s); -2,84 (s); -1,22 (s); 0,93 (s); 3,75 (s); 25,16 (s)	68,02 (4P, s)	-58,1 (12F, br)
5,02	-10,02 (s); -8,49 (s); -5,09 (s); -2,82 (s); -1,20 (s); 0,94 (s); 3,77 (s); 25,18 (s)	68,03(4P, s)	-58,1 (12F, s)
7,75	-9,99 (s); -8,46 (s); -5,06 (s); -2,79 (s); -1,17 (s); 0,97 (s); 3,80 (s); 25,20 (s)	68,03 (4P, s)	-58,1 (12F, s)
8,95	-10,14 (s); -8,60 (s); -5,19 (s); -2,93 (s); -1,30 (s); 0,85 (s); 3,67 (s); 25,11 (s)	68,07 (4P, s)	-58,1 (12F, s)
12,03	-10,15 (s); -8,61 (s); -5,20 (s); -2,94 (s); -1,30 (s); 0,84 (s); 3,65 (s); 25,10 (s)	68,07(4P, s)	-58,1 (12F, s)

Tabulka 4.3: Orientační NMR titrace komplexu $[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$

Komplex $[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$			
pH	δ ^1H NMR	δ ^{31}P NMR	δ ^{19}F NMR
1,05	-57,81 (s); -30,38 (s); -23,73 (s); -2,63 (s); 9,04 (s); 14,06 (s); 18,42 (s); 92,34 (s)	-36,77 (4P, s)	-58,1 (12F, s)
2,98	-57,59 (s); -30,02 (s); -23,44 (s); -2,69 (s); 9,33 (s); 14,37 (s); 18,73 (s); 92,54 (s)	-36,61 (4P, s)	-58,1 (12F, s)
5,05	-57,55 (s); -29,96 (s); -23,40 (s); -2,27 (s); 9,38 (s); 14,41 (s); 18,77 (s); 92,57 (s)	-36,56 (4P, s)	-58,1 (12F, s)
5,95	-57,56 (s); -29,98 (s); -23,40 (s); -2,27 (s); 9,38 (s); 14,41 (s); 18,77 (s); 92,59 (s)	-36,55 (4P, s)	-58,1 (12F, s)
8,95	-57,58 (s); -29,99 (s); -23,42 (s); -2,28 (s); 9,37 (s); 14,40 (s); 18,76 (s); 92,60 (s)	-36,59 (4P, s)	-58,1 (12F, s)
11,95	-57,65 (s); -30,07 (s); -23,47 (s); -2,32 (s); 9,34 (s); 14,36 (s); 18,72 (s); 92,51 (s)	-36,59 (4P, s)	-58,1 (12F, s)

Při porovnání NMR titrací komplexů $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ a $[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ a volného ligandu DOTP^{tfe} (charakterizace spekter uvedeny v Tabulce 4.1) je patrné, že v bazické oblasti dochází k deprotonizaci ligandu, což se ovšem u komplexů neděje. Ve spektrech komplexů nebyly ani patrné změny chemických posunů vlivem protonizace pendantního ramene v kyselém prostředí či případné změny izomerů.

Ze spekter komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ není ani patrná případná deprotonizace vody, která by mohla být koordinovaná přímo na ion lanthanoidu; kdyby se tomu dělo, byly by opět patrné změny v chemických posunech, které ovšem pozorovány nebyly. Tento fakt naznačuje, že v komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ není přímo koordinovaná molekula vody. K potvrzení či vyvrácení této domněnky byly zvoleny luminiscenční studie a výpočet hydratačního čísla q u komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$.

4.3.1 Stanovení hydratačního čísla q

Hydratační číslo q označuje počet molekul vody, které jsou přímo koordinovány na ion lanthanoidu v tzv. "vnitřní koordinační sféře".

K určení hydratačního čísla q bylo použito měření stanovení doby života excitovaného stavu iontu Eu^{III} v komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ v H_2O a D_2O a následný výpočet vztahem (10)[33]:

$$q = A(k_{\text{H}_2\text{O}} - k_{\text{D}_2\text{O}}) \quad (10)$$

kde A je konstanta určující sensitivitu iontu k tlumení vibrací OH oscilátoru (pro Eu rovno $0,525 \text{ ms}^{-1}$) a k je převrácená hodnota doby excitovaného života iontu v H_2O a v D_2O .

Při stanovení doby života excitovaného stavu komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ v H_2O a D_2O byla použita vlnová délka 395 nm pro excitaci a vlnová délka 595 nm pro sledování emise. Doba života excitovaného stavu Eu^{III} v komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ v H_2O byla stanovena na 1,080 ms, v D_2O na 2,360 ms. Za použití vztahu (10) bylo tedy hydratační číslo q stanoveno na 0,5. Z toho lze usuzovat, že ke koordinaci vody buď nedochází a vliv OH oscilátoru na dobu života excitovaného stavu je zprostředkován na větší vzdálenost, podobně jako bylo prokázáno pro Eu^{III} -komplexy série ligandů typu DOTP^{R} , [34] nebo v roztoku existuje rovnováha hydratovaného komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})(\text{H}_2\text{O})]^-$ a nehydratovaného komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$.

4.3.2 Struktura komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ ve vodném roztoku

Poněvadž komplexy typu $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dota})]^-$ obsahují dvě chirální centra, tak se vyskytují ve dvou diastereoizomerních formách. Jedno ze zdrojů chiralit je pětičlenný chelátový cyklus $\text{Ln}^{\text{III}}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$, který může být v konformaci δ nebo λ , druhým zdrojem chiralit jsou pendantní ramena, které se při koordinaci mohou "zatočit" dvěma způsoby – Δ a Λ . Existují tedy 4 izomerní formy komplexů tohoto druhu, které tvoří dva enantiomerní páry diastereoizomerů – $\Delta\delta\delta\delta/\Lambda\lambda\lambda\lambda$ a $\Delta\lambda\lambda\lambda/\Lambda\delta\delta\delta$. Tyto páry diastereoizomerů se liší vzájemnou rotací rovin obsahující N_4 a O_4 , což vede ke dvěma uspořádáním – SA (z angl. "square-antiprismatic", torzní úhel větší než 35° , tvořeno izomery $\Delta\lambda\lambda\lambda/\Lambda\delta\delta\delta$) a TSA (z angl. "twisted-square-antiprismatic", torzní úhel

menší než 30°, tvořen izomery $\Delta\delta\delta\delta/\Lambda\lambda\lambda\lambda$). U komplexů typu $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp})]^{5-}$ a $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{R}})]^{-}$ byly pozorovány výhradně izomery s TSA uspořádáním. [6][35–37]

Dalším zdrojem izomerie je u komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{R}})]^{-}$ s fosfinátovým pendantním ramenem atom fosforu, který je prochirální a koordinací k Ln^{III} vzniká možnost uspořádání *R* a *S*. Pro TSA uspořádání je teoreticky možno 6 izomerů: *RRRR*, *RRRS*, *RRSS*, *RSRS*, *RSSS* a *SSSS*. [34–36]

U SA i TSA uspořádání "trčí" jeden typ vodíkových atomů makrocyclu pod ion lanthanoidu, což zásadně ovlivňuje jeho chemický posun v NMR spektru; tento tzv. "axiální vodík" má svůj specifický chemický posun v závislosti na použitém lanthanoidu, ale také na uspořádání, zda se jedná o SA nebo TSA, např. pro komplexy Eu^{III} mívá tento axiální vodík obvykle posun cca 15–25 ppm pro TSA uspořádání, 25–35 ppm pro uspořádání SA. V závislosti na posunu tohoto axiálního vodíku se dá také určit, zda komplex zaujímá SA či TSA uspořádání. [37]

K charakterizaci a rozboru struktury komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^{-}$ ve vodném prostředí byla naměřena ^1H , ^{19}F a ^{31}P NMR spektra při 25 °C a 37 °C. Charakterizace komplexů při 25 °C je uvedena v Tabulce 3.3 v kap. 3.3.4, signály "axiálního vodíku" jsou zvýrazněny tučně. Na základě počtu signálu je jasné, že v roztoku je přítomen pouze jedno izomerní uspořádání, přičemž z porovnání chemických posunů signálů axiálních vodíků s chemickými posuny publikovanými v literatuře je zřejmé, že se jedná o TSA uspořádání. [34][37]

V ^{31}P NMR spektrech je u všech komplexů patrný pouze jeden signál, s výjimkou komplexů $[\text{Nd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^{-}$ a $[\text{Tb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^{-}$, kde v naměřeném spektru nebyl patrný signál žádný. V ^{19}F NMR spektrech byl pozorován vždy jeden dominantní signál s intenzitou větší než 90 %, množství minoritních signálů bylo proměnlivé od jednoho po čtyři, což dokazuje, že v roztoku je jeden dominantní diastereoizomerní pár, který má stejné uspořádání na všech atomech fosforu, tj. komplexy $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^{-}$ zaujímají v roztoku pouze jedno uspořádání odpovídající jednomu z diastereoizomerních párů enantiomerů – *RRRR*- Λ - $\lambda\lambda\lambda\lambda$ (+*SSSS*- Δ - $\delta\delta\delta\delta$) nebo *RRRR*- Δ - $\delta\delta\delta\delta$ (+*SSSS*- Λ - $\lambda\lambda\lambda\lambda$); to koresponduje i se spektry ^1H NMR, kde u všech komplexů bylo nalezeno právě 8 signálů odpovídající jednomu izomernímu páru.

4.3.3 Relaxační časy T_1 komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$

Byly naměřeny relaxační časy T_1 volného ligandu DOTP^{tfe} a komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 4.4.

Tabulka 4.4: Relaxační časy T_1 ligandu DOTP^{tfe} a komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ (282,187 MHz, D₂O)

Látka	T_1 relaxační čas ^{19}F při 25 °C [s]	T_1 relaxační čas ^{19}F při 37 °C [s]
DOTP ^{tfe}	1,30±0,03	1,66±0,02
$[\text{La}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,97±0,04	1,20±0,05
$[\text{Ce}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,39±0,010	0,39±0,02
$[\text{Pr}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,192±0,006	0,217±0,010
$[\text{Nd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,176±0,006	0,196±0,005
$[\text{Sm}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,68±0,03	0,88±0,03
$[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,46±0,02	0,56±0,02
$[\text{Gd}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,0360±0,0010	0,0384±0,0010
$[\text{Tb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,00794±0,00010	0,0105±0,0002
$[\text{Dy}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,0056±0,0002	0,0072±0,0002
$[\text{Ho}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,00713±0,00010	0,0089±0,0002
$[\text{Er}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,00811±0,00010	0,0098±0,0002
$[\text{Tm}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,0078±0,0002	0,0088±0,0002
$[\text{Yb}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	0,101±0,003	0,107±0,004
$[\text{Lu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$	1,03±0,04	1,27±0,03

Z Tabulky 4.4 je patrné, že největší zkrácení relaxačního času T_1 jader ^{19}F došlo u komplexů Tb^{III}, Dy^{III}, Ho^{III}, Er^{III} a Tm^{III}, kdy zkrácení relaxačního času bylo až o 3 řády, což je zcela v souladu s velikostí magnetických momentů těchto iontů, které jsou uvedeny v Tabulce 4.5. Snížení T_1 relaxačního času u komplexů s diamagnetickými ionty La^{III} a Lu^{III} oproti volnému ligandu lze vysvětlit tím, že relaxace atomů fluoru probíhá více mechanismy, z nichž některé se uplatňují i v diamagnetických soustavách.[29][30][38]

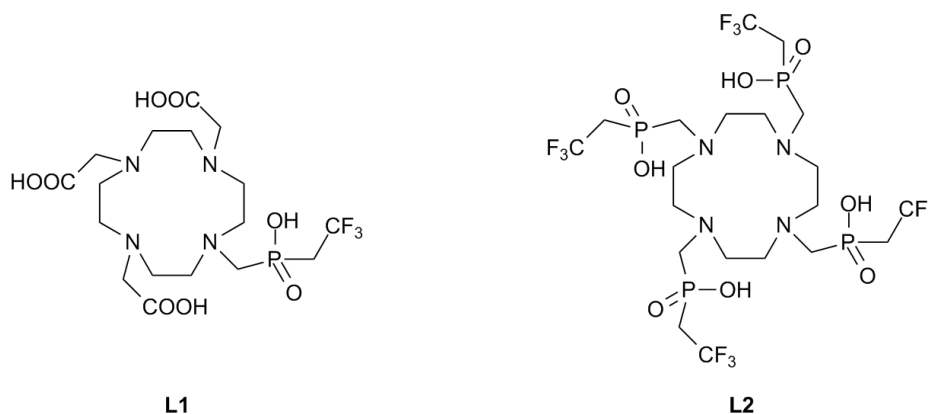
Tabulka 4.5: Magnetické momenty lanthanoidů

Lanthaniod	Magnetický moment μ [B.M.]	Lanthaniod	Magnetický moment μ [B.M.]
La	0	Tb	9,7
Ce	2,56	Dy	10,6
Pr	3,62	Ho	10,6
Nd	3,68	Er	9,6
Sm	1,55–1,65	Tm	7,6
Eu	3,40–3,51	Yb	4,5
Gd	7,94	Lu	0

5. Závěr

V rámci této bakalářské práce se podařilo připravit látku **3**, zcharakterizovat ji dostupnými metodami a optimalizovat syntézu. Dále byly připraveny dva nové ligandy **L1** a **L2** (Obr. 5.1) s obsahem atomů ^{19}F určené pro komplexaci trojmocných iontů ze skupiny lanthanoidů a zcharakterizovat je dostupnými metodami.

Byly také připraveny komplexy $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$, které byly charakterizovány. Pomocí luminiscenční spektroskopie bylo zjištěni hydratační číslo q komplexu $[\text{Eu}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$; NMR studiiemi byla stanovena pravděpodobná struktura komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ ve vodném roztoku. Relaxační časy T_1 komplexů $[\text{Ln}^{\text{III}}(\text{dotp}^{\text{tfe}})]^-$ a volného ligandu DOTP^{tfe} potvrdily výrazné snížení relaxačního času T_1 atomů fluoru vlivem paramagnetického iontu. Připravené látky tedy mají velký potenciál pro použití v ^{19}F MRI a budou v tomto směru dále studovány.



L1

L2

Obr. 5.1: Nové ligandy připravené v rámci této bakalářské práce

6. Seznam literatury

- [1] J. R. Gispert, *Coordination Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH, 2008.
- [2] “Dimercaprol.” [Online]. Available: <http://www.drugs.com/dict/dimercaprol.html>, [cit. 24. 5. 2013].
- [3] “British Anti-Lewisit.” [Online]. Available: <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/bal/development.html>, [cit. 24. 5. 2013].
- [4] “Lékařské Slovníky.” [Online]. Available: <http://lekarske.slovniky.cz/>, [cit. 19. 4. 2013].
- [5] J. Kotek and I. Lukeš, “Cheláty pro Využití v Biomedicínských Oborech,” *Chemické listy*, vol. 104, pp. 1163–1174, 2010.
- [6] J.-M. Idée, M. Port, I. Raynal, M. Schaefer, S. Le Greneur, and C. Corot, “Clinical and Biological Consequences of Transmetallation Induced by Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging: a Review,” *Fundamental & clinical pharmacology*, vol. 20, no. 6, pp. 563–576, Dec. 2006.
- [7] M. Lecchi, L. Ottobriani, C. Martelli, A. Del Sol, and G. Lucignani, “Instrumentation and Probes for Molecular and Cellular Imaging,” *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, no. 51, pp. 111–126, 2007.
- [8] G. D. Luker and K. E. Luker, “Optical Imaging: Current Applications and Future Directions,” *Journal of Nuclear Medicine*, no. 49, pp. 1–4, 2008.
- [9] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, and R. B. Lauffer, “Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications,” *Chemical Reviews*, vol. 99, pp. 2293–2352, 1999.
- [10] C. J. Anderson and M. J. Welch, “Radiometal-Labeled Agents (Non-Technetium) for Diagnostic Imaging,” *Chemical Reviews*, vol. 99, pp. 2219–2234, 1999.
- [11] V. Ullmann, “Jaderná fyzika, Ionizující záření, Radiologie.” [Online]. Available: <http://www.astronuklfyzika.cz/>, [cit. 19. 4. 2013].
- [12] J. Barbet, J.-F. Chatal, F. Gauché, and J. Marino, “Which Radionuclides Will Nuclear Oncology Need Tomorrow?,” *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, no. 33, pp. 627–630, 2006.
- [13] P. Atkins and J. De Paula, *Fyzikální chemie*, 1. vydání. Praha: VŠCHT, 2013.
- [14] A. E. Merbach and É. Tóth, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*. Chichester: John Wiley & Sons, 2001.

- [15] M. T. Vlaardingerbroek and J. A. den Boer, *Magnetic Resonance Imaging. Theory and Practice*. Verlag: Springer, 1996.
- [16] J. C. Knight, P. G. Edwards, and S. J. Paisey, "Fluorinated Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging; a Review of Recent Developments," *RSC Advances*, vol. 1, no. 8, pp. 1415–1425, 2011.
- [17] S. Mizukami, R. Takikawa, F. Sugihara, Y. Hori, H. Tochio, M. Wälchli, M. Shirakawa, and K. Kikuchi, "Paramagnetic Relaxation-based ¹⁹F MRI Probe to Detect Protease Activity," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, no. 3, pp. 794–795, Jan. 2008.
- [18] M. Higuchi, N. Iwata, Y. Matsuba, K. Sato, K. Sasamoto, and T. C. Saido, "¹⁹F and ¹H MRI Detection of Amyloid Beta Plaques in Vivo.," *Nature Neuroscience*, vol. 8, no. 4, pp. 527–533, Apr. 2005.
- [19] J. Yu, V. D. Kodibagkar, W. Cui, and R. P. Mason, "¹⁹F: a Versatile Reporter for Non-invasive Physiology and Pharmacology Using Magnetic Resonance.," *Current Medicinal Chemistry*, vol. 12, no. 7, pp. 819–848, Jan. 2005.
- [20] H. Peng, I. Blakey, B. Dargaville, F. Rasoul, S. Rose, and A. K. Whittaker, "Synthesis and Evaluation of Partly Fluorinated Block Copolymers as MRI Imaging Agents," *Biomacromolecules*, vol. 10, no. 2, pp. 374–381, Feb. 2009.
- [21] Z. Huang, R. S. Sengar, A. Nigam, M.-C. Abadjian, D. M. Potter, D. B. Grotjahn, and E. C. Wiener, "A Fluorinated Dendrimer-based Nanotechnology Platform: New Contrast Agents for High Field Imaging," *Investigative Radiology*, vol. 45, no. 10, pp. 641–654, 2010.
- [22] R. A. Moats, S. E. Fraser, and D. T. J. Meade, "A 'Smart' Magnetic Resonance Imaging Agent That Reports on Specific Enzymatic Activity," *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, vol. 36, no. 7, pp. 726–728, 1997.
- [23] T. D. Pollard and W. C. Earnshaw, *Cell Biology*, 2nd editio. Philadelphia: Saunders elsevier, 2008.
- [24] S. Mizukami, K. Tonai, M. Kaneko, and K. Kikuchi, "Lanthanide-based Protease Activity Sensors for Time-resolved Fluorescence Measurements," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, no. 44, pp. 14376–14377, Nov. 2008.
- [25] S. Mizukami, R. Takikawa, F. Sugihara, M. Shirakawa, and K. Kikuchi, "Dual-Function Probe to Detect Protease Activity for Fluorescence Measurement and ¹⁹F MRI," *Angewandte Chemie (International Edition)*, vol. 48, no. 20, pp. 3641–3643, 2009.
- [26] J. Kim and C. V Dang, "Cancer's Molecular Sweet Tooth and the Warburg Effect," *Cancer Research*, vol. 66, no. 18, pp. 8927–8930, Sep. 2006.

- [27] P. K. Senanayake, A. M. Kenwright, D. Parker, and S. K. van der Hoorn, "Responsive Fluorinated Lanthanide Probes for ^{19}F Magnetic Resonance Spectroscopy," *Chemical Communications*, no. 28, pp. 2923–2925, 2007.
- [28] P. Harvey, I. Kuprov, and D. Parker, "Lanthanide Complexes as Paramagnetic Probes for ^{19}F Magnetic Resonance," *European Journal of Inorganic Chemistry*, vol. 2012, no. 12, pp. 2015–2022, Apr. 2012.
- [29] K. H. Chalmers, E. De Luca, N. H. M. Hogg, A. M. Kenwright, I. Kuprov, D. Parker, M. Botta, J. I. Wilson, and A. M. Blamire, "Design Principles and Theory of Paramagnetic Fluorine-labelled Lanthanide Complexes as Probes for (^{19}F) Magnetic Resonance: a Proof-of-concept Study.," *Chemistry A European Journal*, vol. 16, no. 1, pp. 134–148, Jan. 2010.
- [30] B. Jagadish, G. L. Brickert-Albrecht, G. S. Nichol, E. A. Mash, and N. Raghunand, "On the Synthesis of 1,4,7-Tris(tert-butoxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane," *Tetrahedron Letters*, vol. 52, no. 17, pp. 2058–2061, Apr. 2011.
- [31] D. M. Corsi, C. Platas-Iglesias, H. Van Bekkum, and J. a. Peters, "Determination of Paramagnetic Lanthanide(III) Concentrations from Bulk Magnetic Susceptibility Shifts in NMR Spectra," *Magnetic Resonance in Chemistry*, vol. 39, no. 11, pp. 723–726, Nov. 2001.
- [32] K. Bazakas and I. Lukes, "Synthesis and complexing properties of polyazamacrocycles with pendant N-methylenephosphinic acid," *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, pp. 1133–1137, 1995.
- [33] A. Beeby, I. M. Clarkson, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, L. Royle, A. S. de Sousa, J. a. G. Williams, and M. Woods, "Non-radiative Deactivation of the Excited States of Europium, Terbium and Ytterbium Complexes by Proximate Energy-matched OH, NH and CH Oscillators: an Improved Luminescence Method for Establishing Solution Hydration States," *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, vol. 2, no. 3, pp. 493–504, 1999.
- [34] Z. Kotková, G. a. Pereira, K. Djanashvili, J. Kotek, J. Rudovský, P. Hermann, L. Vander Elst, R. N. Muller, C. F. G. C. Geraldes, I. Lukeš, and J. A. Peters, "Lanthanide(III) Complexes of Phosphorus Acid Analogues of H 4 DOTA as Model Compounds for the Evaluation of the Second-Sphere Hydration," *European Journal of Inorganic Chemistry*, vol. 2009, no. 1, pp. 119–136, Jan. 2009.
- [35] S. Aime, A. S. Batsanov, O. J. I. Mauro, B. Judith, A. K. H. David, K. Senanayake, G. Williams, C. Inorganica, and C. Fisica, "Solution and Solid-state Characterization of Highly Rigid, Eight-Coordinate Lanthanide(III) Complexes of a Macrocyclic Tetrabenzylphosphinatet," *Inorganic Chemistry*, vol. 33, pp. 4696–4706, 1994.
- [36] J. Rohovec, P. Vojtisek, P. Hermann, J. Mosinger, Z. Zak, and I. Lukes, "Synthesis, Crystal Structures and NMR and Luminescence Spectra of

Lanthanide Complexes of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane with N-methylen(phenyl)phosphinic Acid Pendant Arms,” *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, pp. 3585–3592, 1999.

- [37] T. Vitha, V. Kubicek, J. Kotek, P. Hermann, L. Vander Elst, R. N. Muller, I. Lukes, and J. A. Peters, “Gd(III) Complex of a Monophosphate-bis(phosphonate) DOTA Analogue with a High Relaxivity; Lanthanide(III) Complexes for Imaging and Radiotherapy of Calcified Tissues,” *Dalton Transactions*, no. 17, pp. 3204–3214, May 2009.
- [38] A. Keliris, I. Mamedov, G. E. Hagberg, N. K. Logothetis, K. Scheffler, and J. Engelmann, “A Smart (19) F and (1) H MRI Probe with Self-immolative Linker as a Versatile Tool for Detection of Enzymes,” *Contrast Media & Molecular Imaging*, vol. 7, no. 5, pp. 478–483, 2012.

7. Seznam použitých zkratk

CA	contrast agent (kontrastní látka)
CT	computed tomography (počítačová tomografie)
cyklen	1,4,7,10-tetraazacyklododekan
DCM	dichlormethan
DIPEA	ethyldiisopropylamin
DO3A	1,4,7-tris(karboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan (1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7-trioctová kyselina)
DO3AP ^{tfc}	1,4,7,10-tetraazacyklododeka-1,4,7-trioctová-10- methyl(trifluorethyl)fosfinová kyselina
DOTA	1,4,7,10-tetrakis(karboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyklododekan (1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraoctová kyselina)
DOTP ^{tfc}	1,4,7,10-tetraazacyklododeka-1,4,7,10- tetrakis[methyl(trifluorethyl)fosfinová kyselina]
DTPA	3,6,9-tris(karboxymethyl)-3,6,9-triazaundekandiová kyselina (1,1,4,7,7-diethylentriaminpentaoctová kyselina)
EDTA	ethylendiamintetraoctová kyselina
EtOH	ethanol
HMDS	hexamethyldisilazan (bis(trimethylsilyl)amin)
IPAV	<i>i</i> propanol/konc. aq. amoniak/voda (<i>i</i> PrOH/konc. aq. NH ₃ /H ₂ O)
MeCN	acetonitril
MeOH	methanol
MRI	magnetic resonance imaging (tomografie magnetické rezonance)
NMR	nuclear magnetic resonance (nukleární magnetická rezonance)
PET	positron emission tomography (pozitronová emisní tomografie)
<i>R_f</i>	retenční faktor

SPECT	single-photon emission tomography (jednofotonová emisní tomografie)
<i>t</i> Bu	terciální butyl
TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran
TMS	tetramethylsilan
TLC	thin layer chromatography (tenkovrstvá chromatografie)